

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů

Studijní obor: Speciální chemicko-biologické obory



Christos Satratzemis

Struktura minichromozomů polyomavirů

Polyomavirus minichromosome structure

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jitka Forstová, CSc.

Praha 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 2. 4. 2020

Christos Satratzemis

Poděkování:

Děkuji doc. RNDr. Jitce Forstové, CSc. za ochotu, trpělivost a cenné rady při zpracovávání bakalářské práce.

Abstrakt

Genom polyomavirů se v hostitelské buňce nachází v podobě kruhové dvouvláknové DNA s nukleozomy. Exprese polyomavirových genů je tudíž ovlivněna rozmístěním nukleozomů na DNA a histonovými modifikacemi. Tato bakalářská práce shrnuje poznatky o struktuře polyomavirového minichromozomu a o efektech polohy nukleozomů a modifikací histonů na polyomavirový replikační cyklus. Práce zároveň popisuje faktory ovlivňující tyto jevy. Z dostupné literatury vyplývá, že pozice nukleozomů ani modifikace histonů nejsou náhodné, avšak ne všechny virové DNA molekuly jsou v těchto ohledech identické. Procesy jako časná a pozdní transkripce, replikace a enkapsidace tak probíhají pouze na určitých frakcích souboru molekul DNA.

Klíčová slova: polyomavirus; regulace exprese genů; pozice nukleozomů; histonové modifikace

Abstract

The polyomavirus genome is present in the host cell as circular double-stranded DNA associated with nucleosomes. Consequently, the expression of polyomavirus genes is affected by the location of nucleosomes on DNA and histone modifications. This thesis reviews the current state of knowledge regarding the polyomavirus minichromosome structure and the effects of nucleosome phasing and histone modifications on polyomaviral replication cycle. In addition, factors conditioning these phenomena are discussed. Drawing on available literature, neither nucleosome phasing nor histone modifications appear to be random. However, not all viral DNA molecules are identical in these respects. Processes such as early and late transcription, replication and encapsidation thus occur only within certain fractions of the set of DNA molecules.

Key words: polyomavirus; regulation of gene expression; nucleosome phasing; histone modifications

Obsah

1	Úvod	1
2	Obecné informace o polyomavirech	2
2.1	Taxonomie	2
2.2	Struktura genomu	2
2.3	Časné proteiny	3
2.3.1	LT a ST	3
2.3.2	MT	4
2.4	Pozdní proteiny	5
2.4.1	Strukturní proteiny VP1, VP2 a VP3	5
2.4.2	Agnoprotein	5
2.5	Polyomavirová infekce	6
2.5.1	Infekce BK polyomavirem	7
2.5.2	Infekce JC polyomavirem	7
3	Rozmístění nukleozomů na polyomavirové DNA	8
3.1	Změny v rozmístění nukleozomů během replikačního cyklu	8
3.2	Faktory ovlivňující rozmístění nukleozomů	11
3.2.1	Sekvence DNA	11
3.2.2	Transkripční faktory AP a Sp1	12
3.2.3	HMG	13
3.2.3.1	HMGB	14
3.2.3.2	HMGN	16
3.2.4	Virové strukturní proteiny	16
4	Kovalentní modifikace polyomavirového chromatinu	17
4.1	Acetylace histonů	17
4.1.1	Změny v acetylaci histonů během replikačního cyklu polyomaviru SV40	18
4.1.2	Vzorce acetylace histonů u ostatních polyomavirů	19

4.1.3	Faktory ovlivňující acetylaci	19
4.1.3.1	Transkripce	19
4.1.3.2	Histon acetyltransferázy	20
4.1.3.3	Histon deacetylázy	21
4.2	Methylace histonů	21
4.2.1	Změny v methylaci histonů během replikačního cyklu polyomaviru SV40	21
4.2.2	Vzorec methylace histonů ve virionech BK polyomaviru	23
4.3	Methylace DNA	23
4.4	Fosforylace histonů H2AX a jejich asociace s chromatinem polyomavirů	24
5	Závěr	25
	Literatura	26

Seznam použitých zkratk

ACF	ATP-utilizing chromatin assembly and remodeling factor	faktor pro sestavení a remodelaci chromatinu využívající ATP
AP-1, -4	activating protein 1, 4	aktivační protein 1, 4
ATM	ataxia-telangiectasia mutated	kináza, jejíž mutovaná forma je faktorem onemocnění ataxia telangiectasia
ATR	ATM- and Rad3-related	kináza příbuzná ATM a Rad3
BAF	BRG-1-or-BRM-associated factor	faktor asociovaný s BRG-1 nebo BRM
BKPyV	BK polyomavirus	BK polyomavirus
BKVN	BK virus-associated nephropathy	nefropatie asociovaná s BK virem
bp	base pairs	páry bází
bZIP	basic leucine zipper	bazický leucinový zip
C	cysteine	cystein
cAMP	3',5'-cyclic adenosine monophosphate	cyklický adenosin-3',5'-monofosfát
CBP	CREB-binding protein	protein vázající CREB
CHRAC	chromatin accessibility complex	komplex přístupnosti chromatinu
CRE	cAMP-response element	element odpovědi na cAMP
CREB	cAMP-response element-binding protein	protein vázající element odpovědi na cAMP
Da	dalton	dalton

ER	endoplasmic reticulum	endoplazmatické retikulum
ERAD	endoplasmic reticulum-associated degradation	degradace asociovaná s endoplazmatickým retikulem
E2F	E2 promoter-binding factor	faktor vázající E2 promotor
Grb2	growth factor receptor-bound protein 2	protein 2 navázaný na receptor růstového faktoru
GTPáza	guanosine-5'-triphosphate hydrolase	guanosin-5'-trifosfát hydroláza
HAT	histone acetyltransferase	histon acetyltransferáza
HDAC(1)	histone deacetylase (1)	histon deacetyláza (1)
HMG	high mobility group	protein skupiny vysoké mobility
HMGA	high mobility group AT-hook	protein skupiny vysoké mobility s „AT-hook“ doménou
HMGB(1, 2, 3, 4)	high mobility group box (1, 2, 3, 4)	protein (1, 2, 3, 4) skupiny vysoké mobility „box“ doménami
HMGN(1, 2)	high mobility group nucleosome-binding (1, 2)	protein (1, 2) skupiny vysoké mobility s doménou vázající nukleozom
HMG-14, -17	high mobility group protein 14, 17	protein 14 a 17 skupiny vysoké mobility
hpi	hours post-infection	hodin po infekci
H2AX	H2A histone family member X	člen X histonové rodiny H2A

H3K4me1	histone H3 lysine 4 monomethylation	monomethylace čtvrtého lysinu histonu H3
H3K4me2	histone H3 lysine 4 dimethylation	dimethylace čtvrtého lysinu histonu H3
H3K4me3	histone H3 lysine 4 trimethylation	trimethylace čtvrtého lysinu histonu H3
H3K9me1	histone H3 lysine 9 monomethylation	monomethylace devátého lysinu histonu H3
H3K9me2	histone H3 lysine 9 dimethylation	dimethylace devátého lysinu histonu H3
H3K9me3	histone H3 lysine 9 trimethylation	trimethylace devátého lysinu histonu H3
H4K20me1	histone H4 lysine 20 monomethylation	monomethylace dvacátého lysinu histonu H4
H4K20me3	histone H4 lysine 20 trimethylation	trimethylace dvacátého lysinu histonu H4
JCPyV	JC polyomavirus	JC polyomavirus
JDP	Jun dimerization protein	Jun dimerizační protein
K	lysine	lysin
LT	large tumor antigen	velký tumorový antigen
MAPK	mitogen-activated protein kinase	mitogenem aktivovaná proteinkináza
MBD	methyl-CpG-binding domain	methyl-CpG vazebná doména
MCPyV	Merkel cell polyomavirus	polyomavirus Merkelových buněk
mpi	minutes post-infection	minut po infekci

MPyV	murine polyomavirus	myší polyomavirus
mRNA	messenger RNA	mediátorová RNA
MT	middle tumor antigen	střední tumorový antigen
NCCR	non-coding control region	nekódující kontrolní oblast
NFR	nucleosome-free region	oblast bez nukleozomů
<i>ori</i>	origin of replication	počátek replikace
PCAF	p300/CBP-associated factor	faktor asociovaný s p300/CBP
PCNA	proliferating cell nuclear antigen	proliferační antigen buněčného jádra
PKA	protein kinase A	proteinkináza A
PP2A	protein phosphatase 2A	proteinfosfatáza 2A
pRb	retinoblastoma protein	retinoblastomový protein
p300	300-kDa protein	protein o 300 kDa
RC	remodeling complex	remodelační komplex
RNAPII	RNA polymerase II	RNA polymeráza II
RNF8	RING finger protein 8	protein 8 s doménou „RING finger“
RPA	replication protein A	replikační protein A
Shc	Src homologous and collagen	adaptorový protein „Src homologous and collagen“
SH2	Src homology 2	proteinová doména „Src homology 2“
Sos	Son of sevenless	faktor pro výměnu guaninových nukleotidů „Son of sevenless“

Sp1	specificity protein 1	faktor specificity 1
Src	sarcoma	proteinkinázy rodiny Src
ST	small tumor antigen	malý tumorový antigen
SV40	simian virus 40	opičí polyomavirus 40
TAF	TBP-associated factor	faktor asociovaný s TBP
TBP	TATA-binding protein	TATA vazebný protein
TF	transcription factor	transkripční faktor
TFIIA, B, D	transcription factor II A, B, D	transkripční faktor II A, B, D
VP1, 2, 3, 4	viral protein 1, 2, 3, 4	virový protein 1, 2, 3, 4
γ H2AX	phosphorylated histone H2AX	fosforylovaný histon H2AX
17 KT	17-kDa tumor antigen	tumorový antigen o 17 kDa

1 Úvod

Polyomaviry představují skupinu neobalených, v některých případech tumorogenních virů s kruhovou dvouvláknovou DNA. Genom polyomavirů se v hostitelské buňce vyskytuje v podobě tzv. minichromozomu, který, stejně jako genom eukaryot, obsahuje nukleozomy a replikační počátek. Exprese hostitelských i virových genů je ovlivněna především pozicemi nukleozomů na DNA a posttranslačními modifikacemi histonů.

Cílem této bakalářské práce je shrnout dosavadní poznatky o struktuře polyomavirového minichromozomu a o změnách v rozmístění nukleozomů a v modifikacích polyomavirového chromatinu během replikačního cyklu. Práce též nastiňuje interakce mezi virovými a buněčnými proteiny vedoucí k těmto změnám.

Druhá kapitola ve stručnosti pojednává o vlastnostech polyomavirů, důležitých pro orientaci v následující tematické. V kapitole jsou prezentovány znalosti především o laboratorním modelu SV40 (simian virus 40), jelikož většina literatury vztahující se k hlavnímu tématu práce je založena na pokusech právě s SV40. Součástí kapitoly je též krátké pojednání o klinických projevech nákazy lidskými polyomaviry, podtrhující důležitost detailního pochopení životního cyklu této skupiny virů.

Tématem třetí kapitoly je rozmístění nukleozomů na polyomavirových minichromozomech v závislosti na fázi replikačního cyklu. Součástí kapitoly je též přehled obecných (sekvence DNA) a relativně specifických (proteiny) faktorů ovlivňujících pozice nukleozomů.

Proteinové faktory byly zařazovány na základě doložené interakce s polyomavirovými minichromozomy.

Čtvrtá kapitola popisuje změny v kovalentních modifikacích chromatinu. Tyto změny jsou zasazeny do kontextu transkripce, replikace a enkapsidace. Faktory ovlivňující změny modifikací byly začleňovány dle prokázané asociace s polyomavirovými minichromozomy či proteiny.

2 Obecné informace o polyomavirech

2.1 Taxonomie

Název „polyomavirus“ vychází z experimentu objevitele polyomaviru, při kterém injekce filtrátu z lymfomů, obsahujícího nový virus, zapříčinila u novorozených myší vznik mnoha (poly-) nádorů (-oma) (Gross, 1953).

Mezinárodní výbor pro klasifikaci virů registruje v rámci čeledi *Polyomaviridae* více než 95 druhů, které jsou dle sekvence kódující velký T antigen (LT, large tumor antigen, viz kapitola 2.3.1) členěny do čtyř rodů: *Alphapolyomavirus*, *Betapolyomavirus*, *Gammapolyomavirus* a *Deltapolyomavirus*. Hostiteli virů rodů *Alpha*-, *Beta*- a *Deltapolyomavirus* jsou savci, viry rodu *Gammapolyomavirus* napadají ptáky (Calvignac-Spencer et al., 2016; shrnuto v: Moens et al., 2017).

Některé polyomaviry jsou rekombinanty, jelikož např. obsahují gen pro LT, který sekvencí odpovídá určitému druhu polyomaviru, avšak nukleotidová sekvence pro majoritní strukturní protein VP1 (viral protein 1, viz kapitola 2.4) se shoduje s jiným druhem. Z tohoto důvodu byl navržen alternativní přístup k taxonomii polyomavirů, dle kterého by čeleď *Polyomaviridae* obsahovala jediný rod *Polyomavirus* a druhy by byly popisovány na základě sekvencí pro LT a VP1 (analogický systém byl zaveden pro chřipkový virus A) (Buck et al., 2016).

2.2 Struktura genomu

Velikost genomu savčích polyomavirů se pohybuje okolo 5 kbp (5 000 párů bází) (Reddy et al., 1978). V hostitelské buňce se polyomavirová DNA vyskytuje v podobě minichromozomů s přibližně 20 nukleozomy a histony H1, H2A, H2B, H3 a H4. Během enkapsidace dochází ke ztrátě H1 (Chen et al., 1979; Jakobovits et al., 1980).

Genom polyomavirů obsahuje tzv. nekódující kontrolní oblast (NCCR, non-coding control region), která zahrnuje počátek replikace (*ori*, origin of replication), promotor časně a pozdní transkripce, GC boxy a enhancer (schéma genomu na Obr. č. 1) (DiMaio a Nathans, 1982; Everett et al., 1983; Fromm a Berg, 1982; Jongstra et al., 1984; Kelly a Wildeman, 1991; Robinson a Hallick, 1982). Organizace a sekvence částí NCCR se mezi polyomaviry liší (Gosert et al., 2008). Pro popis byla zvolena struktura NCCR častého laboratorního modelu SV40:

- a) Sekvence *ori* SV40 je dlouhá 64 bp a kromě AT bohatého úseku obsahuje vazebné místo pro LT (Deb et al., 1986; Fromm a Berg, 1982). V blízkosti se nachází TATA box časného promotoru (Fromm a Berg, 1982; Wasylyk et al., 1983). Pro pozdní transkripci existuje více promotorů, všechny jsou bez TATA boxu (Ayer a Dynan, 1988). Transkripce probíhá z obou řetězců DNA pomocí buněčné RNA polymerázy II (RNAPII). Virové geny jsou uspořádány po stranách *ori* dle toho, zda jsou transkribovány během časně, či pozdní fáze replikačního cyklu (Hertz a Mertz, 1986).
- b) Názvem GC boxy je označováno šest hexanukleotidů (5'-CCGCCC-3'), které jsou po dvou uspořádány do tří nedokonalých repetitivních sekvencí o 21 bp. GC boxy jsou rozpoznávány buněčným transkripčním faktorem Sp1 (specificity protein 1) (viz kapitola 3.2.2). Vazbou Sp1 je indukována jak časná, tak pozdní transkripce (Barrera-Saldaña et al., 1985; Everett et al., 1983).
- c) Enhancer ovlivňuje časnou i pozdní transkripci a u laboratorního kmene SV40 se skládá ze dvou repetitivních úseků dlouhých 72 bp (izoláty z opic obsahují pouze jednu kopii) (Ilyinskii et al., 1992; Kelly a Wildeman, 1991; Wasylyk et al., 1983). Sekvence enhanceru je rozpoznávána transkripčními faktory AP-1 a AP-4 (aktivační protein 1 a 4), které následně stimulují transkripci (viz kapitola 3.2.2).

2.3 Časné proteiny

Časné proteiny jsou syntetizovány podle mRNA (messenger RNA) vznikajících alternativním sestřihem jediné molekuly časné pre-mRNA. Proteiny mají identickou N-koncovou doménu.

2.3.1 LT a ST

Všechny známé polyomaviry kódují mRNA pro LT a ST (small tumor antigen).

NCCR viru SV40 obsahuje tři vazebná místa pro LT (Fromm a Berg, 1982). Vazbou na tato místa a interakcí s podjednotkou RNA polymerázy II a např. s transkripčními faktory TBP (TATA-binding protein) a Sp1 transaktivuje velký T antigen transkripci (Johnston et al., 1996). LT též inhibuje vlastní expresi zamezením vazby RNAPII na časný promotor, čímž dochází k přechodu na pozdní transkripci (viz kapitoly 3.2.2 a 4.2.1) (Fromm a Berg, 1982). V inhibici exprese časné oblasti mají roli i virové microRNA, komplementární k časným mRNA, a změny v sestřihu virové pre-mRNA (Hyde-DeRuyscher a Carmichael, 1990; Sullivan et al., 2005).

Velký T antigen na vazebném místě v *ori* oligomerizuje do podoby dvojitého hexameru, následně rozvolňuje DNA pomocí své helikázové aktivity a rekrutuje hostitelské proteiny:

topoizomerázu I, RPA (replication protein A) a DNA polymerázu α , čímž iniciuje replikaci (Arunkumar et al., 2005; Dodson et al., 1987; Dornreiter et al., 1990; Gai et al., 2000).

LT se také účastní transformace hostitelské buňky a navození S fáze buněčného cyklu. Velký T antigen např. rozrušuje interakci mezi tumor supresorem pRb (retinoblastoma protein) a transkripčním faktorem z rodiny E2F (E2 promoter-binding factor) (Chellappan et al., 1992). Volný E2F indukuje expresi proteinů spojených se vstupem buňky do S fáze, např. DNA polymerázu α či svorkového proteinu PCNA (proliferating cell nuclear antigen) (Mudrak et al., 1994; Yamaguchi et al., 1995). LT většiny polyomavirů váže, a tím inhibuje tumor supresor p53, který běžně transaktivuje expresi genů zajišťujících zastavení buněčného cyklu (Doherty a Freund, 1997; Farmer et al., 1992). LT myšího polyomaviru (MPyV) neinteraguje s p53, virus nicméně interakcí s pRb dokáže blokaci buněčného cyklu překonat (Doherty a Freund, 1997; Wang et al., 1989).

ST, stejně jako LT, hraje roli v přechodu buňky do S fáze. Malý T antigen např. vazbou a blokací fosfatázy PP2A (protein phosphatase 2A) aktivuje MAPK (mitogen-activated protein kinase) signální dráhu vedoucí k buněčnému dělení (Sontag et al., 1993).

2.3.2 MT

Střední T antigen (MT, middle tumor antigen) je kódován např. polyomavirem asociovaným s onemocněním trichodysplasia spinulosa a myším polyomavirem (Ito et al., 1977; van der Meijden et al., 2015).

Přestože MT nemá katalytickou aktivitu, účastní se transformace hostitelské buňky. MT je transmembránový protein, zakotvený v membránách svou C-koncovou doménou.

Na cytoplazmatické membráně rekrutuje skrz interakci s PP2A tyrosinové proteinkinázy rodiny Src (sarcoma) (Ogris et al., 1999; Zhou et al., 2011). Střední T antigen je Src kinázami fosforylován na specifických tyrosinových zbytcích. Dané fosfotyrosiny jsou rozpoznávány rodinou adaptorových proteinů Shc (Src homologous and collagen) za pomoci domény SH2 (Src homology 2). Shc jsou následně též fosforylovány, což vyvolává vazbu adaptorového proteinu Grb2 (growth factor receptor-bound protein 2). Grb2 verbuje např. faktor pro výměnu guaninových nukleotidů Sos (Son of sevenless), díky čemuž dochází k aktivaci Ras GTPázy (guanosin-5'-trifosfát hydroláza), spouštějící MAP kinázovou dráhu (Dilworth et al., 1994; Iversen et al., 2014; Nicholson et al., 2001; Ong et al., 2001; Rozakis-Adcock et al., 1992).

2.4 Pozdní proteiny

Molekuly mRNA pozdních proteinů vznikají alternativním sestřihem pozdní pre-mRNA.

2.4.1 Strukturní proteiny VP1, VP2 a VP3

Gen pro minoritní strukturní proteiny VP2 a VP3 (viral protein 2 a 3) se na svém 3' konci překrývá s 5' koncem genu pro VP1. Molekuly mRNA pro minoritní strukturní proteiny jsou však translatovány v jiném čtecím rámci než mRNA pro VP1 (Contreras et al., 1977).

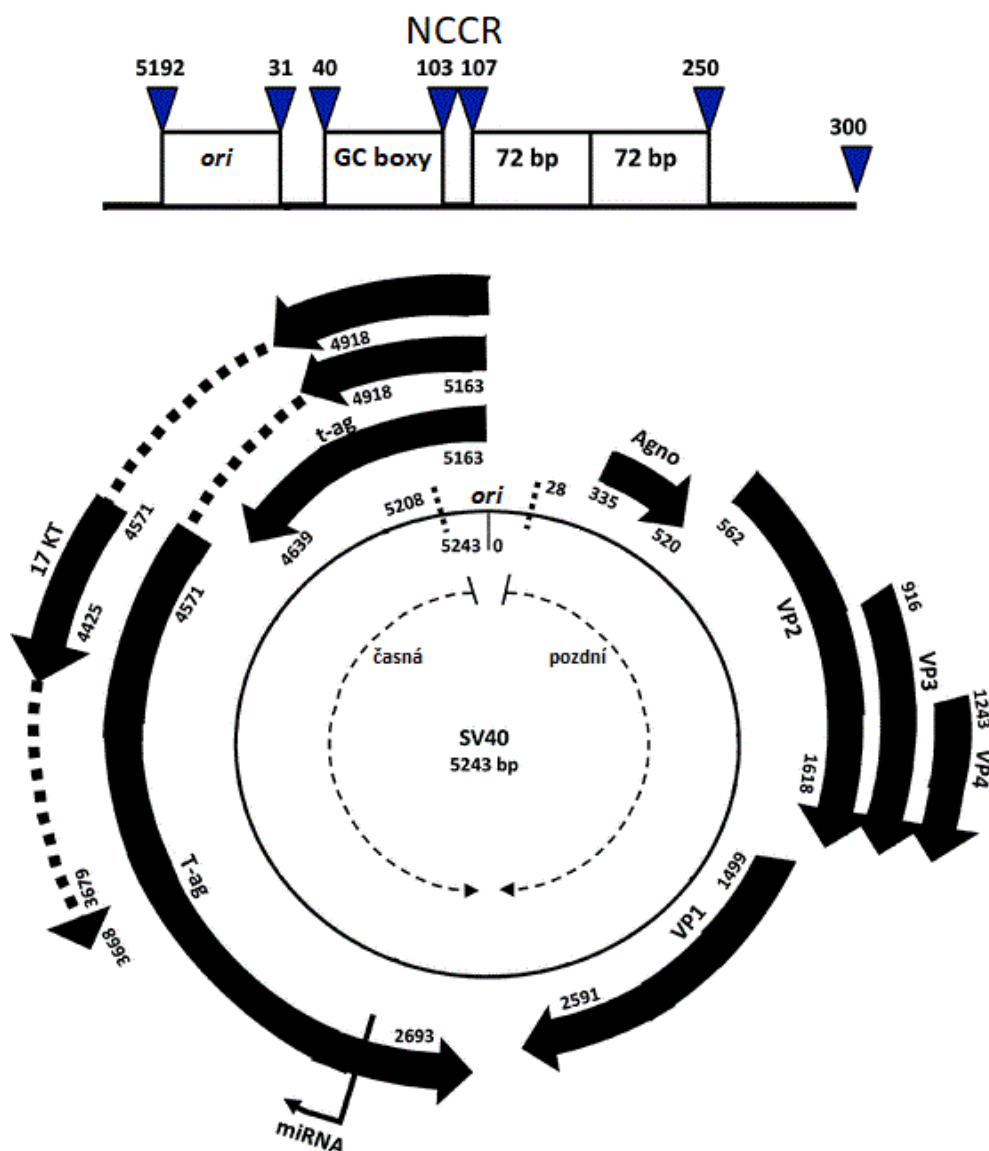
Proteiny VP2 a VP3 jsou delší a kratší variantou téže sekvence, ze které sdílí C-koncovou doménu. VP2 má navíc unikátní N-koncovou doménu, jejíž koncový glycin je, např. u MCPyV a MCPyV (polyomaviru Merkelových buněk), myristylovaný. V rámci C-koncové domény VP2 a VP3 a N-koncové domény VP1 se nacházejí jaderné lokalizační signály (Clever a Kasamatsu, 1991; Ishii et al., 1996; Krauzewicz et al., 1990; Schowalter a Buck, 2013).

Postupným skládáním pentamerů VP1, proteinů VP2 a VP3 a polyomavirového minichromozomu dochází v pozdní fázi replikačního cyklu k morfogenezi virionů (Bina et al., 1983). Ve virionech některých polyomavirů (např. MCPyV) se VP3 nevyskytuje (Schowalter a Buck, 2013). Vnější průměr ikosahedrální kapsidy polyomavirů činí přibližně 45 nm (Sandalon a Oppenheim, 1997; Stehle et al., 1996). Kapsida se skládá ze 72 kapsomer VP1, v jejichž centrální prohlubni je ukotven VP2, nebo VP3. Z těchto kapsomer je 12 obklopeno pěti dalšími kapsomerami, zbývajících 60 sousedí každá se šesti. Stabilita kapsidy je zajištěna vzájemnými interakcemi C-konců VP1 proteinů, N-konce kontaktují virový minichromozom (Liddington et al., 1991; Rayment et al., 1982).

2.4.2 Agnoprotein

Agnoprotein je multifunkčním proteinem exprimovaným např. polyomaviry BK, JC nebo SV40 (Jay et al., 1981; Okada et al., 2001; Rinaldo et al., 1998).

Hlavní funkcí agnoproteinu je zřejmě udržet správný chod replikačního cyklu. Agnoprotein polyomaviru JC např. stimuluje replikaci virové DNA zvýšením afinity LT pro *ori* (Saribas et al., 2012). Během pozdní fáze životního cyklu viru BK však sequestruje PCNA, čímž replikaci inhibuje (Gerits et al., 2015). Agnoprotein funguje též jako viroporin a usnadňuje tak únik virového potomstva z buňky (Suzuki et al., 2010).



Obr. č. 1: Schéma genomu polyomaviru SV40. Genom je rozdělen na časnou a pozdní část (zde vlevo a vpravo). Šipky naznačují směr transkripce a jejich relativní délka odpovídá délce dané mRNA. Přerušované čáry mezi šípkami představují vystřiženou část pre-mRNA. Čísla označují vzdálenost daného nukleotidu od *ori*, čísluje se po směru hodinových ručiček (ve směru pozdní transkripce). Ve spodní části schématu je také vyznačena oblast iniciace transkripce microRNA, regulující expresi časných genů. V časně oblasti genomu je též kódován protein 17 KT (17-kDa tumor antigen), podílející se na stimulaci proliferace infikované buňky (Comerford et al., 2012). VP4 (viral protein 4) představuje nestrukturní protein s funkcí viroporinu (Daniels et al., 2007). T-ag označuje velký T antigen, t-ag představuje malý T antigen. Upraveno dle učebnice: Lednický a Butel, 2011.

2.5 Polyomavirová infekce

Dle průběhu polyomavirové infekce lze hostitelské buňky rozdělit na permisivní a nepermisivní. V permisivních buňkách probíhá celý replikační cyklus včetně závěrečné buněčné lyze. Během infekce nepermisivních buněk může docházet k expresi časných genů, jejichž produkty navozují transformaci buňky, případně i k integraci polyomavirového genomu do buněčné DNA (Oh et al., 1990; Ozer et al., 1981).

Polyomaviry jsou po vstupu do buňky transportovány vakuoly do endoplazmatického retikula (ER), ze kterého unikají do cytoplazmy za pomoci proteinů ERAD dráhy (endoplasmic reticulum-associated degradation). Před translokací do jádra dochází v ER a v cytoplazmě k částečnému rozvolnění kapsidy (Geiger et al., 2011; Inoue a Tsai, 2011; Nakanishi et al., 1996). V jádře hostitelské buňky pak v případě lytické infekce následuje časná transkripce a syntéza časných proteinů. Jakmile se vytvoří LT, může být iniciována replikace virového genomu a následně i intenzivní pozdní transkripce, syntéza pozdních genových produktů a morfogeneze virionů (Balakrishnan et al., 2010; Balakrishnan a Milavetz, 2005). Aktivní únik části virového potomstva z buňky může být usnadněn agnoproteinem (Suzuki et al., 2010). Replikační cyklus polyomavirů končí lyzí infikovaných buněk.

Séroprevalence proti lidským polyomavirům je v mnoha populacích vysoká, přičemž infekce a perzistence je asymptomatická (Rossi et al., 2007). V případě imunodeficience hostitele však polyomaviry mohou být faktorem vzniku závažných onemocnění či rakovinného bujení (Drachenberg et al., 2004; Kassem et al., 2009; Ramamoorthy et al., 2011). Léčba chorob způsobených polyomaviry je nespecifická (Segarra-Newnham a Vodolo, 2001).

2.5.1 Infekce BK polyomavirem

BK polyomavirus byl poprvé izolován v roce 1971 z moči příjemce transplantované ledviny (Gardner et al., 1971). Po primární infekci přetrvává BKPyV asymptomaticky v buňkách ledvin či v leukocytech v periferní krvi (Chesters et al., 1983; Gu et al., 2003). V případě snížení imunity hostitele, např. podáním imunosupresiv po transplantaci, může dojít k reaktivaci viru a tím i k virurii a virémii (Brennan et al., 2005; Markowitz et al., 1993). U některých pacientů s virurií či virémií se může dále rozvinout malfunkce transplantovaného orgánu vlivem množení BKPyV. Mezi tyto choroby se řadí např. nefropatie asociovaná s BK polyomavirem (BKVAN, BK virus-associated nephropathy) (Drachenberg et al., 2004). Rizikovým faktorem BKVAN je BKPyV-séropozitivita dárce a séronegativita příjemce (Sood et al., 2013). O BKPyV se též spekuluje jako o jedné z možných příčin nádorů (Geetha et al., 2002).

2.5.2 Infekce JC polyomavirem

Poprvé byl JCPyV izolován roku 1971 z mozku pacienta s progresivní multifokální leukoencefalopatií (PML) a Hodgkinovým lymfomem (Padgett et al., 1971). JC polyomavirus perzistuje v buňkách ledvin či v leukocytech v periferní krvi (Chesters et al., 1983; Gu et al., 2003). V moči je JCPyV přítomný i u jedinců s nesníženou imunitou (Markowitz et al., 1993). U imunokompromitovaných jedinců může reaktivací JCPyV docházet k rozvoji choroby PML

(Koralnik et al., 2004). Příčinou PML je především exprese LT JC polyomaviru v oligodendrocytech, čímž je poškozen proces myelinizace axonů (Trapp et al., 1988). JCPyV, stejně jako BKPyV, by mohl představovat faktor při rozvoji nádorových onemocnění (Ramamoorthy et al., 2011).

3 Rozmístění nukleozomů na polyomavirové DNA

Většina poznatků ohledně tematiky této kapitoly vychází z pokusů s laboratorním modelem SV40 během jeho lytického cyklu. Popisované jevy však nejspíše probíhají i u MPyV (viz dále).

3.1 Změny v rozmístění nukleozomů během replikačního cyklu

Pozice nukleozomů na minichromozomech polyomaviru SV40 v infikované buňce nejsou jednotné. Na virovém chromatinu však lze rozlišit tzv. silné („strong“) a slabé („weak“) nukleozomové pozice, tedy místa, na kterých se v populaci minichromozomů vyskytují nukleozomy s vyšší, resp. nižší frekvencí (Ambrose et al., 1990). Jelikož rozmístění nukleozomů ovlivňuje transkripci a replikaci, ne všechny molekuly virové DNA se účastní každého procesu virového replikačního cyklu. Minichromozomy tak vytváří „funkční populace“, zaměřené na časnou transkripci, replikaci či pozdní transkripci (viz dále) (Ambrose et al., 1989; Brady et al., 1981a; Kumar et al., 2019).

Na úseku DNA SV40 kódujícím pozdní proteiny je větší počet silných nukleozomových pozic (8) než na úseku s časnými geny (4). Jedna ze silných pozic v pozdním úseku genomu se nachází nedaleko míst iniciace pozdní transkripce. Např. oblast terminace replikace obsahuje několik slabých překrývajících se nukleozomových pozic se stabilními nukleozomy (Ambrose et al., 1990, 1989; Poljak a Gralla, 1987).

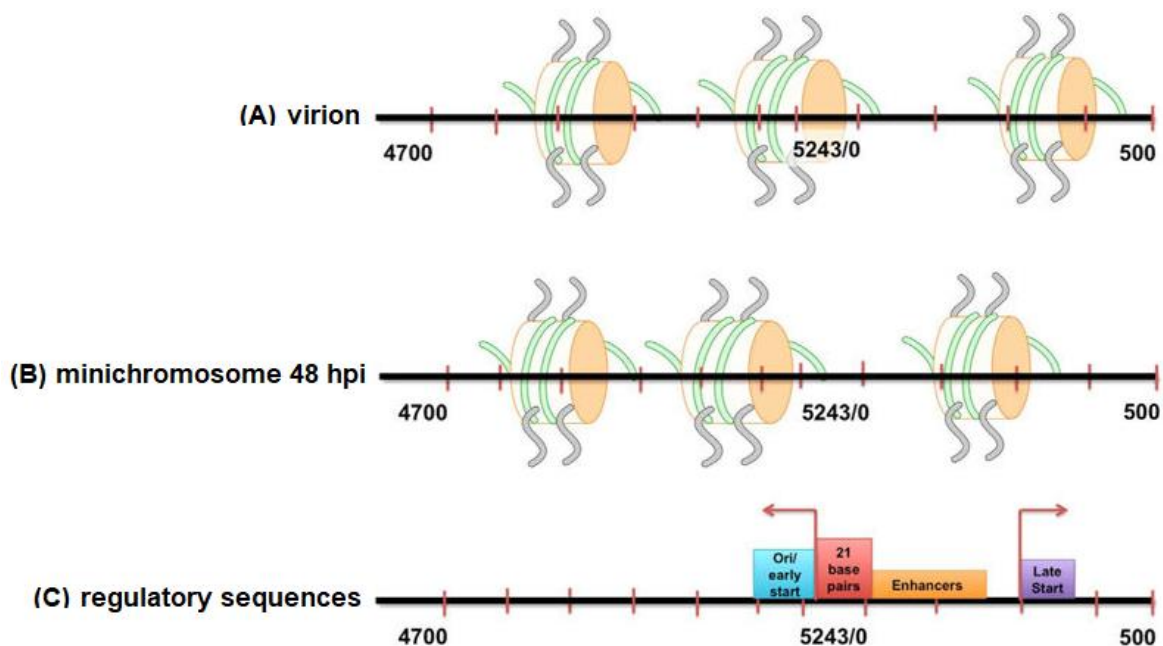
V pozdní fázi replikačního cyklu je na 15 až 20 % minichromozomů SV40 detekována oblast bez nukleozomů, tzv. nucleosome-free region (NFR), citlivá k působení nukleáz (Saragosti et al., 1980). NFR se v této fázi infekce rozprostírá zhruba na 400 bp (Jakobovits et al., 1980; Saragosti et al., 1980) a zahrnuje *ori* a regulační elementy (časné a pozdní promotory, enhancer, GC boxy) (DiMaio a Nathans, 1982; Fromm a Berg, 1982; Jakobovits et al., 1980; Jongstra et al., 1984; Kumar et al., 2017; Robinson a Hallick, 1982; Thompson et al., 1979; Varshavsky et al., 1978). Hranice NFR v pozdní části je vymezena nukleozomem vzdáleným 8 bp po směru transkripce od místa iniciace pozdní transkripce. Lokalizace nukleozomů na „časné straně“ NFR je více variabilní, dle některých autorů např. nezahrnuje místo iniciace časné transkripce (Ambrose et al., 1989; Jongstra et al., 1984; Kumar et al., 2017). Důvodem

variability je samotný rozdíl v lokalizaci nukleozomů mezi jednotlivými minichromozomy, ale také postup při experimentu (odlišná teplota kultivace infikovaných buněk, použití různých virových kmenů, čas a způsob izolace viru atd.) (Kumar et al., 2017).

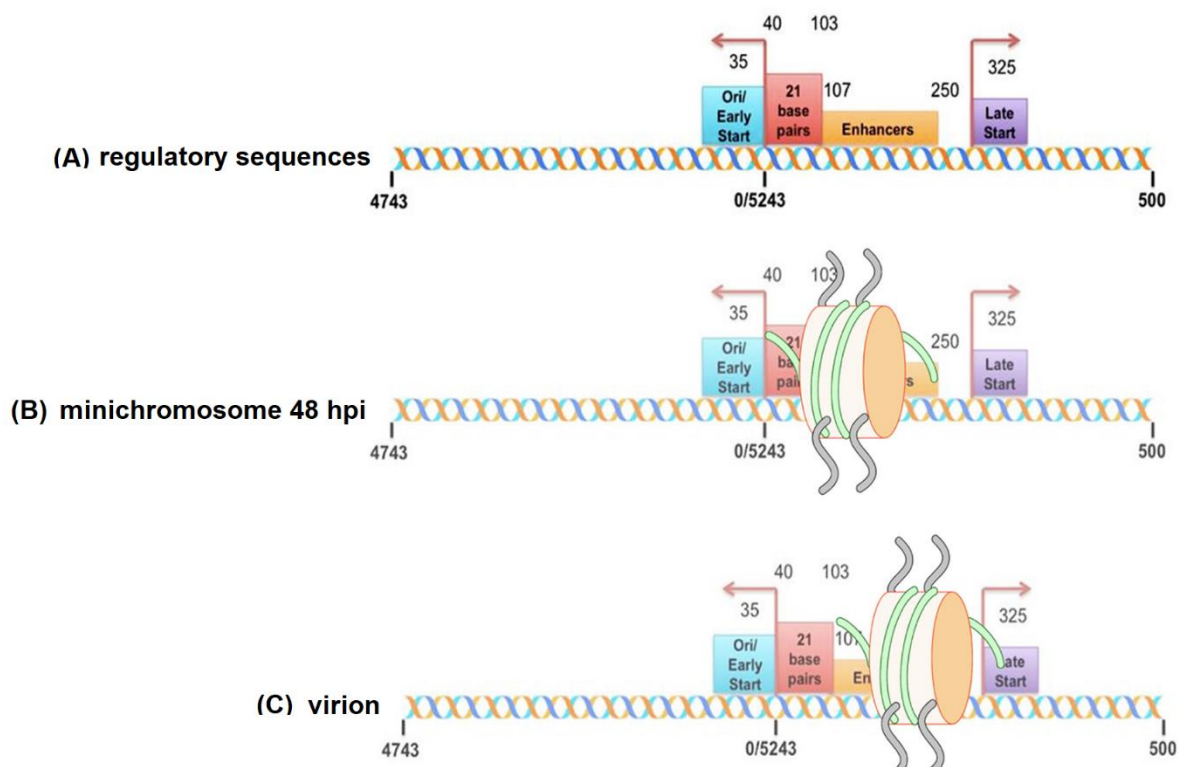
Během replikačního cyklu viru se struktura NFR mění. Ve virionech SV40 je sekvence *ori* a iniciačního místa časné transkripce sbalena do nukleozomu se středem na nukleotidu 5 223 (vzdálenost od *ori* po směru pozdní transkripce), místo iniciace pozdní transkripce je součástí nukleozomu s centrálním nukleotidem 363. Po infekci nové hostitelské buňky dochází nejspíše k vazbě transkripčních faktorů na odhalený enhancer a na GC boxy (viz kapitola 3.2.2), což do 30 mpi (minut po infekci) zapříčiňuje změnu uspořádání NFR. Konkrétně dochází k vyvázání nukleozomu na nukleotidu 5 223 a tím i k iniciaci časné transkripce. V menší míře dochází i k posunu nukleozomu na nukleotidu 363. Přibližně 48 hpi (hodin po infekci) jsou nukleozomy centrovány na nukleotidech 5 119 a 212, přičemž iniciační místa časné a pozdní transkripce jsou odkryta a též *ori* je přístupný. Nukleozom na nukleotidu 212 zahrnuje pouze část GC boxů a enhanceru, čímž reprimuje časnou transkripci, avšak pozdní transkripce probíhá (viz Obr. č. 2). Přítomnost nukleozomu na nukleotidu 212 zřejmě zajišťuje LT (viz kapitoly 3.2.2 a 4.2.1). Při tvorbě virionů dochází k posunu nukleozomu z nukleotidu 5 119 zpět na 5 223 a z nukleotidu 212 ve směru pozdní transkripce (k nukleotidu 363), čímž jsou odkryty zmíněné regulační elementy, které v následující infekci umožní opětovnou změnu ve struktuře NFR (viz Obr. č. 3). Morfogeneze virionů je však zřejmě v tomto ohledu promiskuitní a umožňuje přenos minichromozomů i s jiným uspořádáním NFR (Crémisi, 1981; Kumar et al., 2017, 2019; Milavetz, 1986, 2004).

Histony výše zmíněných nukleozomů jsou ve virionech specificky posttranslačně modifikovány, přesto však nejsou na všech minichromozomech modifikovány identicky. Nukleozom posunutý během enkapsidace z nukleotidu 212 obsahuje hyperacetylované histony H3 a H4 a monometylovaný, dimetylovaný či trimetylovaný devátý lysin histonu H3 (H3K9me1, H3K9me2, H3K9me3, viz kapitola 4). Nukleozom se středem na nukleotidu 5 223 zahrnuje hyperacetylovaný histon H3 a také H3K9me2, H3K9me3 a H4K20me1. Histon H3 však nebývá na K9 zároveň methylovaný a acetylovaný (Litt et al., 2001). Hyperacetylace histonů H3 a H4 je typická pro minichromozomy polyomavirů izolované z virionů. Zmíněné methylace (kromě H4K20me1) souvisí s represí transkripce (viz kapitoly 4.1.1, 4.2.1) (Kumar et al., 2019).

Struktura podobná NFR se vyskytuje i u myšího polyomaviru. Je zde detekovatelná 24 hod po infekci u 20 % minichromozomů a zahrnuje okolí *ori* až počátek pozdní transkripce (Herbomel et al., 1981).



Obr. č. 2: Lokalizace nukleozomů na NCCR SV40. Čísla označují pořadí nukleotidů (počítáno od *ori* ve směru pozdní transkripce). (A) Ve virionu nukleozom se středem na nukleotidu 5 223 blokuje *ori* a iniciační místo časně transkripce. Nukleozom na nukleotidu 363 obsahuje místo iniciace pozdní transkripce. (B) V závěru replikačního cyklu viru (48 hpi) se nukleozomy na minichromozomu nacházejí na nukleotidu 5 119 a 212. (C) Pozice regulačních elementů: *ori* a iniciační místo časně transkripce („Ori/early start“), GC boxy („21 base pairs“), enhancer (skládá se ze dvou sekvencí o 72 bp, může být tedy použito množné číslo: „Enhancers“) a místo iniciace pozdní transkripce („Late Start“). Šipky naznačují směr transkripce. Upraveno dle: Kumar et al., 2017.



Obr. č. 3: Pozice nukleozomu na NCCR SV40. Čísla označují pořadí nukleotidů (počítáno od *ori* ve směru pozdní transkripce). Šipky naznačují směr transkripce. (A) Pozice regulačních elementů: *ori* a iniciační místo časně transkripce („Ori/Early Start“), GC boxy („21 base pairs“), enhancer („Enhancers“) a místo iniciace pozdní transkripce („Late Start“). (B) Část GC boxů a enhanceru je v pozdní fázi replikačního cyklu (48 hpi) zabalena do nukleozomu. (C) Při enkapsidaci je nukleozom posunut ve směru pozdní transkripce, čímž uvolňuje vazebná místa pro transkripční faktory. Upraveno dle: Kumar et al., 2019.

3.2 Faktory ovlivňující rozmístění nukleozomů

3.2.1 Sekvence DNA

Sekvence nukleotidů ovlivňuje nasedání histonů především ze stérického hlediska. Např. poly(dA) úseky destabilizují nukleozomy (Iyer a Struhl, 1995). K ohybu DNA helixů namotaných na nukleozomové „core“ přispívají specifické dinukleotidy, jež jsou od sebe vzdálené přibližně 10 bp (tzn. cca 1 otočku vlákna B-DNA). Dinukleotidy ApA:TpT jsou preferovány v místech, kde malý žlábek DNA směřuje k histonům, zatímco GpC:GpC (nebo TpG:CpA či GpG:CpC) se nacházejí v malých žlábcích směřujících od histonů (viz Obr. č. 4) (Satchwell et al., 1986).

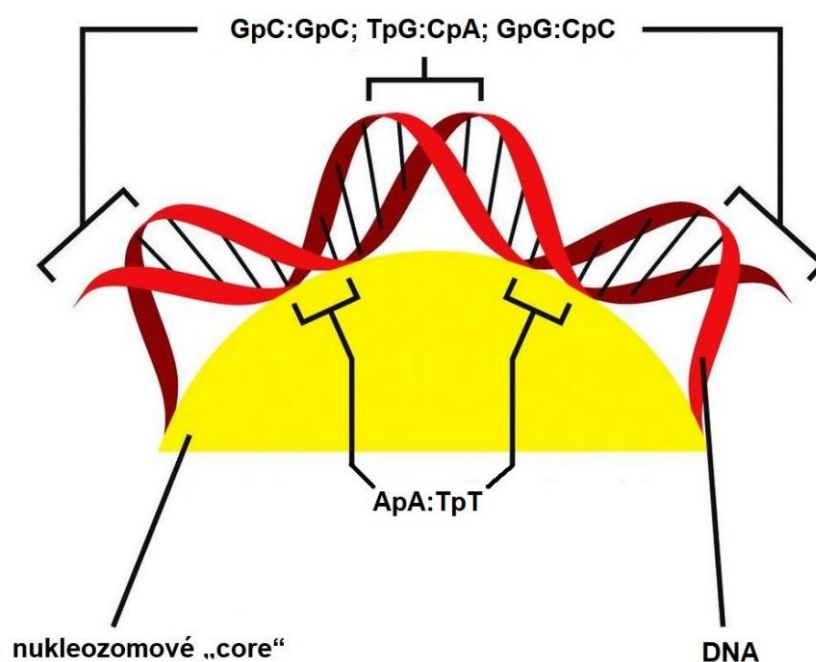


Figure 4-27 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Obr. č. 4: Schéma interakce mezi DNA a nukleozomovým „core“. ApA:TpT dinukleotidy se nachází v místech, kde je malý žlábek natočen k histonům. GpC:GpC (nebo TpG:CpA či GpG:CpC) dinukleotidy jsou v místech, kde malý žlábek směřuje od histonů. Upraveno dle učebnice: Alberts et al., 2008.

V NCCR viru SV40 se nachází tři segmenty dlouhé 8 bp, ve kterých se střídají purinové a pyrimidinové báze a které jsou schopné formovat Z-DNA (dva úseky jsou lokalizovány v enhanceru, třetí dále po směru pozdní transkripce). Úseky Z-DNA zabraňují tvorbě nukleozomů a slouží často jako promotory či enhancery (Jongstra et al., 1984; Liu et al., 2001; Nordheim a Rich, 1983; Wong et al., 2007).

3.2.2 Transkripční faktory AP a Sp1

AP-1 je rodina homodimerních či heterodimerních transkripčních faktorů. Podjednotky představují proteiny z rodin c-Jun, c-Fos a JDP (Jun dimerization protein) (Aronheim et al., 1997; Bohmann et al., 1987; Gentz et al., 1989; Szalóki et al., 2015). Heterodimer c-Fos a c-Jun tvoří tzv. bZIP (basic leucine zipper) doménu, sestávající z leucinové „coiled-coil“ a z bazické části (Gentz et al., 1989). Vazba bazického úseku heterodimeru c-Fos/c-Jun či homodimeru c-Jun na DNA zapříčiňuje její ohyb (Kerppola a Curran, 1991). Příbuzný transkripční faktor AP-4 je tvořen pouze homodimery a namísto bZIP domény obsahuje motiv „helix-loop-helix“ s přilehlým úsekem bohatým na zbytky bazických aminokyselin (Hu et al., 1990). Vazebná místa pro AP-1 a AP-4 se nachází v enhancerové oblasti genomu SV40 (Mermoud et al., 1988).

Protein Sp1 patří do rodiny transkripčních faktorů Sp s charakteristickým DNA vazebným motivem zinkového prstu (Oka et al., 2004). V genomu SV40 se Sp1 váže do GC boxů (Li et al., 1994). Úloha Sp1 jako transkripčního regulátoru byla objevena též u BKPyV (Bethge et al., 2015).

Jak AP-1 (v podobě c-Fos/c-Jun), tak Sp1 se mohou vázat na DNA zabalenou do nukleozomu. Oba transkripční faktory interagují s remodelačními komplexy, schopnými nukleozom posunout. Např. AP-1 po své vazbě na specifický úsek DNA v rámci nukleozomu verbuje savčí remodelační komplex BAF (BRG-1-or-BRM-associated factor). AP-1 též nukleozomy rozvolňuje, pokud jsou obsažené histony acetylované (Kadam et al., 2000; Li et al., 1994; Ng et al., 1997; Vierbuchen et al., 2017). Bylo prokázáno, že vazba AP-1 a Sp1 do příslušných vazebných míst na minichromozomu SV40 stimuluje transkripci z časného promotoru změnou pozice nukleozomů (Jongstra et al., 1984; Milavetz, 2002). Role AP-1 byla prokázána i u JCPyV. Při absenci velkého T antigenu JCPyV, AP-1 stimuluje transkripci zejména časně oblasti (Sadowska et al., 2003). S postupem replikačního cyklu se LT hromadí, interaguje s AP-1, čímž však dochází k represí transkripce a replikace (Kim et al., 2003a). Vysvětlení nabízí pokusy s SV40: odstraněním jednoho z vazebných míst pro LT dochází ke zvýšení počtu minichromozomů s NFR a není tlumena časná transkripce. LT tedy zřejmě nepřímo zajišťuje posun nukleozomů interakcí s AP-1 (DiMaio a Nathans, 1982; Kube a Milavetz, 1996). Tyto práce též podporují představy o roli LT v přechodu na pozdní transkripci.

Transkripční faktory AP-1 a Sp1 interagují také s histon acetyltransferázami (HAT) p300 (300-kDa protein) a CBP (CREB-binding protein) (viz kapitola 4.1.3.2). Sp1 váže též histon deacetylázy (HDAC) (viz kapitola 4.1.3.3). Jedním z důsledků acetylace histonů je rozvolnění interakcí mezi DNA a histony (Hong et al., 1993).

AP-4 svou vazbou na jeden z pozdních promotorů SV40 zajišťuje vznik NFR (Friez et al., 1999; Mermoud et al., 1988), nicméně jeho interakce s LT či s remodelačními faktory zatím prokázána nebyla.

3.2.3 HMG

HMG (high mobility group) je superrodina chromatinových proteinů, ovlivňujících genovou expresi, replikaci a pozměňujících strukturu chromatinu. Skupina zahrnuje proteinové rodiny HMGA, HMGB a HMGN s charakteristickými DNA vazebnými doménami. Rodina HMGA obsahuje tzv. AT-hook doménu (Fonfría-Subirós et al., 2012), HMGB tzv. HMG-box domény

(Hardman et al., 1995; Weir et al., 1993) a proteiny HMGN doménu vázající nukleozom (Ueda et al., 2008). U členů rodiny HMGB (HMGB1 a 2) a HMGN (HMG-14 a HMG-17, high mobility group protein 14, 17) byla pozorována asociace s minichromozomem viru SV40 (Ding et al., 1997; La Bella et al., 1981; Mathis et al., 1980; Vestner et al., 1998).

Společným znakem většiny členů rodin HMGB a HMGN je přítomnost vazebného místa na „linker“ DNA, které se může překrývat s místem vazby histonu H1 (Alfonso et al., 1994; Tremethick a Hyman, 1996; Ueda et al., 2004). HMGB a HMGN proteiny kontaktují C-konec histonu H1 pomocí svých C-koncových domén, což vede ke změně interakce H1 s okolní DNA a následně k dekonduzaci daného úseku chromatinu (Alfonso et al., 1994; Catez et al., 2004; Cato et al., 2008; Ding et al., 1997; Kato et al., 2011; Murphy et al., 2017; Thoma et al., 1979; Watson et al., 2007). Proteiny také interagují s histony nukleozomového „core“ (např. s N-koncem histonu H3), čímž zabraňují formování vyšších chromatinových struktur (Tremethick a Hyman, 1996; Trieschmann et al., 1995a, 1998; Ueda et al., 2004).

Posttranslační modifikace proteinů skupiny HMG ovlivňují jejich interakce a lokalizaci v buňce. Fosforylace proteinů HMG během mitózy snižuje jejich afinitu k DNA, následkem čehož dochází k jejich zvýšenému výskytu v cytoplazmě (Kato et al., 2011; Louie et al., 2000; Youn a Shin, 2006). Časné proteiny polyomavirů, interagující s buněčnými kinázami a fosfatázami, by tedy mohly ovlivňovat lokalizaci některých HMG proteinů a tím i stav svého chromatinu. Např. střední T antigen MPyV by stimulací aktivity proteinkinázy C, která fosforyluje HMG-14, HMG-17 a HMGB1, mohl přispět ke kondenzaci chromatinu a tím i k morfogenezi virionů (Marcellus et al., 1991; Palvimo et al., 1987; Wang et al., 2018).

3.2.3.1 HMGB

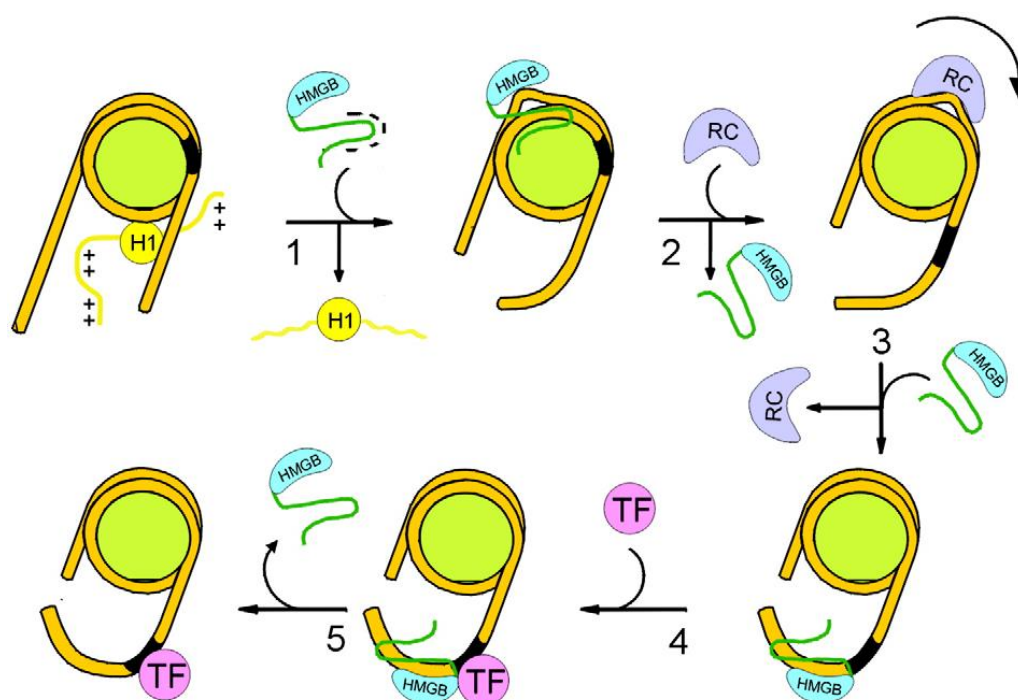
Rodina HMGB (high mobility group box) u savců zahrnuje sekvenčně podobné proteiny HMGB1 až 4 (nebo také HMG-1 až -4, high mobility group protein-1 až -4). Tyto proteiny obsahují dvě DNA vazebné domény (HMG-box A a B) a – kromě HMGB4 – vnitřně neuspořádanou C-koncovou doménu bohatou na glutamát a aspartát (Catena et al., 2009; Watson et al., 2007; Yoshioka et al., 1999).

Vazba HMGB na DNA není závislá na sekvenci nukleotidů (Paull et al., 1993). HMGB mají afinitu např. k jednovláknovým (Bidney a Reeck, 1978), poškozeným (Lanuszewska a Widlak, 2000) či deformovaným úsekům DNA (Pil et al., 1993).

HMG-box B proteinů HMGB1 i HMGB2 svou interakcí s DNA způsobuje ohyb vlákna DNA a rozvolnění chromatinu (Paull et al., 1993; Pil et al., 1993; Yoshioka et al., 1999). Oba

proteiny takto nejspíše mohou zvýšit afinitu transkripčních faktorů k DNA a indukovat transkripci RNA polymerázou II a III (Tremethick a Molloy, 1986). Vliv HMGB na transkripci nicméně není vždy stimulační. HMGB1 např. váže TBP jak volný, tak navázaný na TATA box, čímž vytváří neaktivní komplex. K disociaci HMGB1 navázaného na TBP dochází při interakci s TFIIB (transcription factor II B), pokud je TFIIB v nadbytku, či s TFIIA (transcription factor II A) (Ge a Roeder, 1994; Lu et al., 2000).

Proteiny HMGB verbují remodelační faktory, které jsou zodpovědné za posun nukleozomů. Např. vazba HMGB1 na „linker“ DNA v blízkosti nukleozomu stimuluje navázání remodelačních komplexů ACF (ATP-utilizing chromatin assembly and remodeling factor) a CHRAC (chromatin accessibility complex) na DNA a zároveň dochází ke zvýšení aktivity těchto komplexů (Bonaldi et al., 2002). Komplex CHRAC posouvá nukleozom z oblasti *ori* SV40, čímž umožňuje nasednutí LT do přilehlých vazebných míst (Alexiadis et al., 1998). LT následně iniciuje replikaci virové DNA (viz kapitola 2.3). Mechanismus působení proteinů rodiny HMGB ukazuje Obr. č. 5.



Obr. č. 5: Mechanismus působení proteinů rodiny HMGB. Histon H1 se váže do oblasti přechodu DNA mezi „linker“ oblastí a nukleozomem. (1) Interakcí C-koncové domény HMGB s „core“ histony a s H1 dochází k uvolnění histonu H1. (2) HMGB nepřímo zapříčiňuje zvýšení afinity remodelačního komplexu (RC) k danému úseku DNA vytvořením smyčky (popř. ohybu). Vazbou RC dochází k uvolnění HMGB. RC posouvá smyčku DNA, čímž zpřístupňuje sekvenci pro vazbu transkripčního faktoru (TF). (3) RC ztrácí k DNA afinitu. HMGB se váže do okolí specifické sekvence, kterou opět určitým způsobem deformuje, (4) čímž rekrutuje TF. (5) Po vazbě TF je HMGB opět uvolněn. Přejato z review: Štros, 2010.

3.2.3.2 HMGN

Proteinová rodina HMGN (high mobility group nucleosome-binding) zahrnuje mimo jiné funkčně podobné proteiny HMG-14 (nebo také HMGN1) a HMG-17 (HMGN2) (Landsman a Bustin, 1986; Trieschmann et al., 1995a). HMG-14 a -17 jsou v buňce přítomny v limitních množstvích, při replikaci se tedy navazují především na nukleozomy transkripčně aktivního chromatinu, který je replikován přednostně (Weisbrod, 1982; Weisbrod et al., 1980). Proteiny HMG-14 a HMG-17 mohou nahradit dimer histonu H2A a H2B (Tremethick, 1994; Tremethick a Hyman, 1996; Weisbrod et al., 1980), vážou se nicméně i na již sestavený nukleozom (Trieschmann et al., 1995b).

HMG-14 a -17 vazbou na DNA nukleozomu a interakcí své C-koncové domény s histony (např. s H3) zamezují sbalování chromatinu do vyšších struktur (Ding et al., 1997; Kato et al., 2011; Tremethick a Hyman, 1996; Trieschmann et al., 1995b, 1998), avšak jednotlivé nukleozomy stabilizují (Crippa et al., 1993; Trieschmann et al., 1995b). Afinity proteinů HMG-14 a HMG-17 k nukleozomu je redukována acetyltransferázami, a to např. PCAF (p300/CBP-associated factor) a p300, které interagují s polyomavirovými LT (viz kapitola 4.1.3.2) (Bergel et al., 2000; Herrera et al., 1999). Viry by tak mohly „využít“ proteiny HMGN k rozvolnění kompaktní struktury svého minichromozomu, čímž by umožnily přístup transkripčním faktorům.

Výsledkem působení HMG-17 je stimulace iniciace replikace a postupu replikační vidličky (Vestner et al., 1998). HMG-14 a -17 zároveň zvyšují frekvenci iniciace transkripce z promotorů obsahujících i neobsahujících TATA box a také podněcují elongační fázi transkripce (Ding et al., 1994, 1997; Tremethick a Hyman, 1996; Trieschmann et al., 1995a; Vestner et al., 1998)¹.

3.2.4 Virové strukturní proteiny

Hlavní strukturní protein VP1 se nejspíše podílí na rozmístění nukleozomů NCCR během morfogeneze virionu. Biochemické studie naznačují, že VP1 virů SV40 a MPyV interagují preferenčně s DNA v oblasti kolem *ori*. Přítomnost VP1 SV40 také zajišťuje efektivní transkripci při následující infekci (Ambrose et al., 1986; Bina et al., 1983; Blasquez et al., 1986; Brady et al., 1981a, 1981b; Carbone et al., 2004). Interakce mezi VP1

¹ Někteří autoři nepozorovali korelaci mezi přítomností HMG-14 a -17 a zvýšenou frekvencí iniciace transkripce. Tyto výsledky však nejspíše pramení z použití sekvence jednoho z pozdních promotorů SV40 bez nukleozomu (Ding et al., 1997).

a polyomavirovou DNA byla prokázána též ve virionech BKPyV za pomoci kryoelektronové mikroskopie (Hurdiss et al., 2016).

Dle hypotézy by se mezi C9 (cystein 9) N-konce VP1 a C96 histonu H3 mohl vytvářet přechodný disulfidický můstek. DNA vazebná doména N-konce VP1 obsahující dva klastry zbytků bazických aminokyselin by následně interakcí s DNA v dané oblasti mohla zapříčinit její posun a odkrytí enhanceru a GC boxů (viz Obr. č. 3 a kapitola 3.1) (Bina et al., 1983; Kumar et al., 2019; Li et al., 2001; Liddington et al., 1991).

Stav chromatinu ve virionech polyomaviru SV40 byl popsán jako tekutý krystal. Nukleozomy se po enkapsidaci stále alespoň nepatrně v obou směrech po vlákne DNA posunují. Pohyby nukleozomů jsou nejspíše vyvolávány kondenzací virového chromozomu. Stlačení minichromozomu totiž vyvolává intenzivnější elektrostatické interakce mezi aminokyselinovými zbytky vnitřní strany kapsidy a nukleozomy a mezi nukleozomy samotnými. Nedostatkem tohoto modelu je nezahrnutí možného efektu nadšroubovicového vinutí, který by pohyb nukleozomů mohl omezit (Saper et al., 2013).

4 Kovalentní modifikace polyomavirového chromatinu

Histony polyomavirových minichromozomů nejsou modifikované identicky, podobně jako není stejné ani rozmístění nukleozomů na polyomavirové DNA. Minichromozomy tvoří pomyslné populace s určitými modifikacemi, vykonávající určité funkce. Během pokusů jsou však sledovány globální změny v modifikacích histonů (viz dále) (Balakrishnan et al., 2010; Balakrishnan a Milavetz, 2005; Milavetz et al., 2012). Níže popisované změny v modifikacích histonů se týkají průběhu lytického cyklu.

K označení histonových modifikací se používají zkratky. Ty uvádí, o jaký histon se jedná (např. H3 nebo H4), označení a pozici modifikované aminokyseliny (např. K20) a charakter a počet přidaných chemických skupin (např. me1 pro jednu methylovou skupinu).

4.1 Acetylace histonů

Acetylové skupiny jsou přidávány na ϵ -aminoskupinu lysinů N-koncové domény histonů pomocí histon acetyltransferáz, opačnou reakci provádějí histon deacetylázy. Acetylací histonů v nukleozomech dochází k rozvolnění struktury DNA a jejímu zpřístupnění transkripčním faktorům a RNA polymeráze II (Balakrishnan a Milavetz, 2008; Hong et al., 1993; Lee et al., 1993).

4.1.1 Změny v acetylaci histonů během replikačního cyklu polyomaviru SV40

Ve virionech a následně v infikované buňce záhy po infekci (30 mpi) jsou detekovatelné dvě populace minichromozomů s různými vzorci acetylace: jedna s hyperacetylovanými histony H3 a H4, druhá pouze s hyperacetylovanými histony H4. Obě izoformy virového chromatinu se vyznačují přítomností NFR. Některé minichromozomy však nukleozomy, preferenčně s hyperacetylovanými H3, v oblasti NCCR obsahují. Hyperacetylované H4 se nevyskytují přednostně v žádné oblasti minichromozomů (Balakrishnan a Milavetz, 2005; Chen et al., 1979; Milavetz, 2004).

Dle původní hypotézy je přítomnost hyperacetylovaných histonů ve virionech SV40 způsobena jejich morfogenezí: agregující virové strukturní proteiny by zamezovaly přístupu deacetylázám k virovému chromatinu, který by byl následně v porovnání s chromatinem hostitelské buňky hyperacetylován (Bina et al., 1983; Chen et al., 1979; Vesco a Fantuzzi, 1982). Hypotéza však nevysvětluje přítomnost dvou různě hyperacetylovaných populací minichromozomů. Dle novějších představ by hyperacetylace mohla pramenit z acetylačních vzorců minichromozomů přítomných již během předcházejícího replikačního cyklu. Např. především acetylace H4 usnadňuje elongační fázi replikace (Alexiadis et al., 1997; Balakrishnan et al., 2010; Milavetz, 2004; Ruan et al., 2015).

Během několika hodin po infekci (do 3 hpi) jsou některé histony H4 postupně deacetylovány, a to v populaci s hyperacetylovanými H4. Je však možné, že nedochází pouze k deacetylaci, ale zároveň k degradaci určitého procenta minichromozomů, řízené infikovanou buňkou (viz kapitola 4.2.1). Přibližně 8 hpi je pozorována deacetylace H3 v časně oblasti minichromozomů, čímž je reprimována časná transkripce (Balakrishnan et al., 2010; Balakrishnan a Milavetz, 2008, 2005; Milavetz, 2004).

V pozdní fázi infekce (48 hpi) jsou hyperacetylované H3 a H4 zejména v pozdní oblasti minichromozomů, což umožňuje transkripci pozdních genů. Určitá frakce minichromozomů je však dále replikována a ještě menší procento zajišťuje časnou transkripci. V této fázi je tak populace minichromozomů, pokud jde o modifikace histonů, nejvíce heterogenní (Balakrishnan a Milavetz, 2005; Milavetz, 2004). Část nově replikovaných minichromozomů s hyperacetylovanými H4 a část transkribujících minichromozomů s hyperacetylovanými H3 a H4 je methylována na H3 a obsahuje tak H3K9me2 a H3K9me3. Tyto minichromozomy jsou následně enkapsidovány a zmíněné modifikace zajišťují iniciaci následující infekce (viz kapitola 4.2.1) (Kallestad et al., 2014; Milavetz, 2004).

4.1.2 Vzorce acetylace histonů u ostatních polyomavirů

Histony H3 jsou ve virionech BKPyV hyperacetylované. Konkrétně dochází k acetylaci K18 a K9. Tyto modifikace se nenacházejí v chromatinu hostitelských buněk, a proto by mohly mít specifickou roli ve stimulaci exprese virových proteinů či v morfogenezi virionů (Fang et al., 2015).

Mezi vzorcem acetylace histonů H4 minichromozomů BKPyV ve virionech a v chromatinu hostitelských buněk nebyl nalezen rozdíl. Hyperacetylace lysinů histonů H4 by tak mohla být důležitá jak pro virus, tak pro buňku (např. pro replikaci, viz kapitola 4.1.1). Hyperacetylace lysinů H4 negativně koreluje s methylací a formylací H4. Acetylace tyto modifikace nahrazuje či zabraňuje jejich vkládání (Fang et al., 2015).

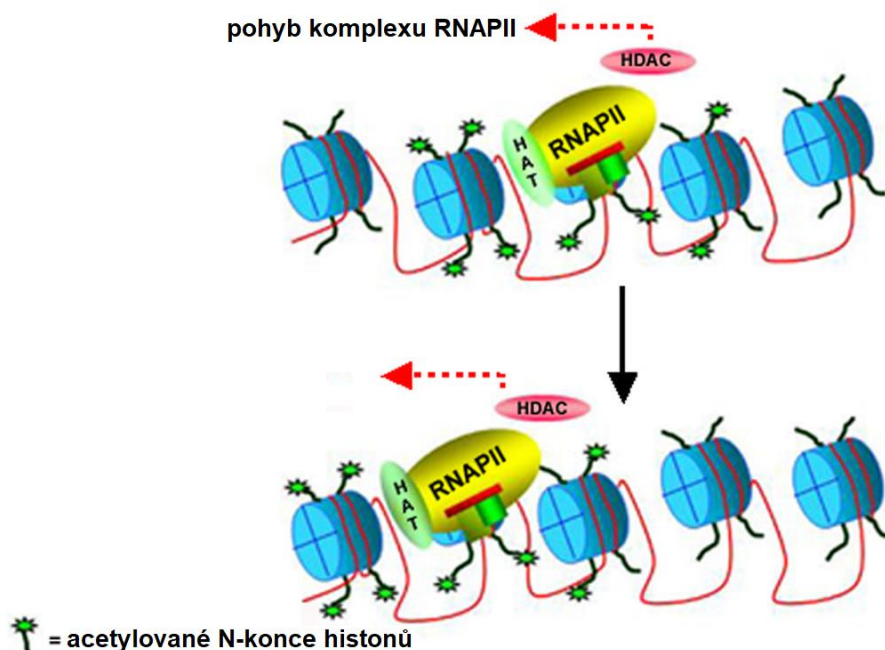
K hyperacetylaci H3 a H4 dochází i na histonech DNA myšího polyomaviru (Schaffhausen a Benjamin, 1976).

Změny v acetylaci histonů na minichromozomech BKPyV a MPyV během infekce zatím nebyly studovány.

4.1.3 Faktory ovlivňující acetylaci

4.1.3.1 Transkripce

Hyperacetylace H3 a H4 v kódujících oblastech minichromozomů SV40 je částečně způsobena průchodem RNA polymerázy II. Při iniciaci transkripce dochází k přímé interakci RNAPII s histon acetyltransferázou, která během elongace acetylací histonů rozvolňuje nukleozomy. Histony mohou být po průchodu komplexu RNAPII-HAT zpětně deacetylovány histon deacetylázou, asociovanou s HAT, což může pozastavit následující RNAPII v případě, že neinteraguje s HAT (viz Obr. č. 6). Interakce HDAC ani HAT není stálá, proteiny mohou během transkripce odpadnout a znovu s transkripčním komplexem asociovat (Balakrishnan a Milavetz, 2007b, 2007a; Neish et al., 1998; Yamagoe et al., 2003). Z těchto důvodů dochází k největším výkyvům v acetylaci histonů v transkribovaných oblastech, tedy mimo NCCR (viz kapitola 4.1.1).



Obr. č. 6: Model translokace HDAC a komplexu RNAPII-HAT na polyomavírovém chromatinu. Během elongace před sebou HAT v komplexu s RNAPII acetyluje histony. Dochází tak k rozvolnění chromatinu, který se stává přístupnějším pro RNAPII. Nejspíše nepřímo asociovaná HDAC histony zpětně deacetyluje. Upraveno dle: Balakrishnan a Milavetz, 2007b.

4.1.3.2 Histon acetyltransferázy

Histon acetyltransferázy p300 a CBP se vyznačují vysokým stupněm sekvenční homologie (někdy jsou proto označovány jako p300/CBP). Proteiny p300 a CBP acetylují jak histony, tak i jiné proteiny, fungují jako adaptorové proteiny a asociují s HDAC a RNAPII, kterou mohou verbovat k promotorům (Balakrishnan a Milavetz, 2007b; Bannister a Kouzarides, 1996; Boija et al., 2017; Galbiati et al., 2005; Yamagoe et al., 2003). Díky bromodoméně se p300/CBP mohou vázat přímo na histony (Ebrahimi et al., 2019; Manning et al., 2001). Proteiny p300 a CBP mohou být fosforylovány a v závislosti na počtu fosforylovaných aminokyselin a jejich lokalizaci v proteinu je aktivita p300/CBP buď snížena, či zvýšena (Chen et al., 2007; Yuan a Gambee, 2000).

Protein CREB (cAMP-response element-binding protein), který asociuje s CBP, je po zvýšení cytosolické koncentrace cAMP (cyklický adenosin-3',5'-monofosfát) fosforylován v jádře proteinkinázou A (PKA) a specificky váže pomocí své bZIP domény CRE element (cAMP-response element). CBP poté interaguje s CREB a transaktivuje transkripci vazbou např. TFIIB (Chrivia et al., 1993; Kwok et al., 1994; Schumacher et al., 2000).

Proteiny p300 a CBP vážou transkripční faktory Sp1 a AP-1. Afinita Sp1 k DNA se interakcí s p300/CBP zvyšuje (Chen et al., 2007; Suzuki et al., 2000; Yin et al., 2005). Sp1 a AP-1

se mohou vázat do NCCR polyomavirů (viz kapitola 3.2.2), nicméně dopad interakcí s p300/CBP na virový replikační cyklus nebyl studován.

LT polyomavirů SV40, BK a JC zesilují translaci proteinů p300/CBP v infikovaných buňkách (Sáenz Robles et al., 2013). LT SV40 váže nefosforylované p300/CBP a usměrňuje jejich acetyltransferázovou aktivitu. LT takto nepřímo reprimuje, či naopak transaktivuje určité buněčné geny. Tyto interakce přispívají k deregulaci buněčného cyklu (Avantaggiati et al., 1996; Eckner et al., 1996; Sáenz Robles et al., 2013). Případný efekt zmíněných interakcí na virový chromatin či expresi virových proteinů zkoumán nebyl.

4.1.3.3 Histon deacetylázy

Histon deacetylázy se účastní regulace replikačního cyklu polyomaviru SV40. Deacetylase znesnadňuje vazbu RNAPII, popř. její průchod, a tím dochází k inhibici transkripce genů dané fáze replikačního cyklu (Balakrishnan a Milavetz, 2008). Přestože je známo, že LT SV40 váže histon deacetylázu 1 (HDAC1), efekt této interakce na polyomavirový minichromozom nebyl studován (Valls et al., 2007).

Histon deacetylázy (nejspíše HDAC1) ovlivňují tropismus JCPyV. V gliových buňkách jsou histony v regulační oblasti časně transkripce JCPyV acetylovány a virus zde tak může perzistovat. Následkem vazby HDAC s Sp1 (viz kapitola 3.2.2) jsou však dané histony v nepermisivních buňkách deacetylovány, a tak nedochází k expresi časných virových genů (Doetzelhofer et al., 1999; Kim et al., 2003b).

4.2 Methylace histonů

K methylaci dochází na lysinech a argininech N-koncových domén histonů. Lysiny mohou být monometylovány, dimetylovány nebo trimetylovány; argininy mohou být monometylovány a asymetricky či symetricky dimetylovány (Kakimoto a Akazawa, 1970; Nakajima et al., 1971). Methylace je katalyzována histon methyltransferázami (HMT), využívajícími jako substrát S-adenosyl-L-methionin (Paik a Kim, 1968). Histon demethylázy (HDM) methylové skupiny odnímají. Methylace histonů může transkripci buď podněcovat, či tlumit, a to v závislosti na typu modifikovaného histonu a počtu methylových skupin (Barski et al., 2007).

4.2.1 Změny v methylaci histonů během replikačního cyklu polyomaviru SV40

Minichromozomy polyomaviru SV40 se v rané fázi replikačního cyklu vyznačují přítomností H4K20me1 a H4K20me3. Ve virionech nejsou H4K20me3 a objevují se až po vstupu do hostitelské buňky. Význam H4K20me3 je nejasný, buď má modifikace význam

v rozvolnění chromatinu, či se jedná o obranný mechanismus napadené buňky s cílem označit minichromozomy k degradaci. Mezi 30 mpi a 8 hpi totiž dochází k redukci množství SV40 DNA, která koreluje se snížením výskytu minichromozomů s H4K20me3. Později během infekce nejsou H4K20me3 detekovány vůbec. H4K20me1 jsou udržovány během celého replikačního cyklu (Balakrishnan et al., 2010; Milavetz et al., 2012).

Během časně transkripce viru SV40 je detekován vysoký počet minichromozomů s H3K9me2 a je pozorován pokles H3K9me1. Následně zvyšováním koncentrace časněho proteinu LT dochází k obsazování jednoho z jeho tří vazebných míst (toto místo se nachází blízko *ori* po směru časně transkripce). Zde LT zřejmě verbuje faktory modifikující chromatin, následkem čehož se snižuje zastoupení H3K9me2 a dochází k represí časně transkripce. Studie však v této fázi replikačního cyklu neupřesňují pozice H3K9me2 na minichromozomech. H3K9me2 se mohou vyskytovat v pozdní oblasti, kde by inhibovaly pozdní transkripci. Snižování jejich zastoupení během časně fáze by tak umožnilo derepresi pozdní transkripce a nemuselo by souviset s utlumením časně transkripce (viz níže), které by mohlo být vyvoláno asociací velkého T antigenu s histon deacetylázami a posunem nukleozomů (Balakrishnan a Milavetz, 2008; Kallestad et al., 2013, 2014; Milavetz et al., 2012).

V průběhu replikace DNA SV40 (začíná cca 24 hpi) jsou zaváděny některé methylace (např. H3K9me1, H3K9me2, H3K4me1, H4K20me1), patrně díky asociaci histon methyltransferáz s replikovaným chromatinem a replikačním aparátem. U polyomaviru SV40 nedochází k reprodukci methylačního vzorce templátu, ale k tzv. epigenetic switch („epigenetická záměna“). Histony jednotlivých minichromozomů během tohoto děje nemusí být modifikovány identicky. Minichromozomy jsou takto předurčeny k transkripci pozdních proteinů, replikaci či enkapsidaci (a v následné infekci k časně transkripci) (Balakrishnan a Milavetz, 2009; Balakrishnan et al., 2010; Estève et al., 2006; Kallestad et al., 2013). Např. introdukcí H4K20me1 je stimulována pozdní transkripce. Dále např. H3K9me1 a H3K4me1 tlumí časnou transkripci, přičemž zavedení těchto methylací závisí též na LT (Balakrishnan et al., 2010; Kallestad et al., 2013; Nikolaou et al., 2017). „Epigenetic switch“ obohacuje minichromozomy také např. o H3K9me2 a H3K9me3 (Kallestad et al., 2013, 2014).

V pozdní fázi replikačního cyklu jsou H3K9 dimetylovány a trimetylovány i nezávisle na replikaci. Přítomnost H3K9me2 a H3K9me3 na minichromozomech je spojena s represí pozdní transkripce. Tyto minichromozomy jsou následně enkapsidovány a přítomné

modifikace zajišťují utlumení pozdní transkripce během časně fáze následující infekce (Kallestad et al., 2013, 2014).

Ve virionech minichromozomy polyomaviru SV40 obsahují H4K20me1, H3K9me1, H3K9me2 a H3K9me3 (a relativně vysoký počet hyperacetylovaných histonů H3 a H4, viz kapitola 4.1.1) (Balakrishnan et al., 2010; Milavetz et al., 2012). Přítomnost H4K20me1 nejspíše zajišťuje kondenzaci virového chromatinu (Brejc et al., 2017).

Jak bylo již zmíněno, modifikační vzorce nejsou u všech minichromozomů v infikované buňce stejné. Např. v pozdní fázi replikačního cyklu SV40 (48 hpi) lze rozlišit pět virových epigenomů s následujícími histonovými modifikacemi (nebylo však studováno rozmístění histonů a výčet typů modifikovaných histonů není vyčerpávající) (Milavetz et al., 2012):

- a) Především s H3K4me2, dále s H3K9me1, H3K9me2, H3K9me3
a s hyperacetylovanými histony H4. Lze předpokládat, že minichromozomy s takto modifikovanými histony jsou enkapsidovány, jelikož obsahují methylované H3K9 a hyperacetylované H4.
- b) S hyperacetylovanými histony H3 a H4, a zejména s H3K4me2. Molekuly DNA v komplexu s takovými histony jsou nejspíše transkribovány.
- c) S H3K4me3 a hyperacetylovanými histony H4
- d) S H3K9me1, H3K9me2, H4K20me1 a hyperacetylovanými histony H4
- e) Především s H3K9me3

4.2.2 Vzorec methylace histonů ve virionech BK polyomaviru

Histony H3 jsou ve virionech BKPyV, na rozdíl od chromatinu hostitelských buněk, methylovány na K5, K9 a K18. Lysin 9 histonu H3 se ve virionech objevuje též jako dimethylovaný a trimethylovaný (viz kapitola 4.2.1) (Fang et al., 2015).

Vzorec methylace histonů H4 v hostitelských buňkách je totožný s profilem jejich methylace ve virionech BKPyV (Fang et al., 2015).

Změny v profilu methylace histonů na minichromozomech BKPyV během infekce zatím nebyly studovány.

4.3 Methylace DNA

Methylace DNA probíhá nejčastěji na 5'-uhlíku cytosinu v rámci CpG dinukleotidů (5'-CpG-3'). Methylované CpG dinukleotidy mohou samy o sobě zamezit vazbě transkripčních faktorů, případně jsou rozpoznávány proteiny s MBD (methyl-CpG-binding

domain), které asociují s represory (např. HDAC) (Iguchi-Arigo a Schaffner, 1989; Nan et al., 1993, 1998).

Vliv methylace polyomavirové DNA *in vivo* dosud nebyl studován podrobně, na průběh infekce však nejspíše nemá vliv. CpG BK polyomaviru zůstávají po celou dobu replikačního cyklu nemethylované. Samotné polyomaviry se zřejmě možné represi způsobenou DNA methylací „brání“ nízkým počtem CpG v NCCR (Chang et al., 2011; Everett et al., 1983).

4.4 Fosforylace histonů H2AX a jejich asociace s chromatinem polyomavirů

Poškození DNA vyvolává aktivaci signálních drah, které vedou k opravě DNA, pozastavení buněčného cyklu či apoptóze (Caporali et al., 2004). Součástí těchto drah jsou kinázy ATM (ataxia-telangiectasia mutated) a ATR (ATM- and Rad3-related protein). Kináza ATM je aktivována autofosforylací a následnou monomerizací a účastní se především odpovědi na přítomnost dvouvláknových zlomů DNA (Bakkenist a Kastan, 2003; Burma et al., 2001). Proteinkináza ATR je součástí reakce na pozastavení replikační vidlice a na přítomnost jednovláknových úseků DNA (Sowd et al., 2013; Zou a Elledge, 2003). ATM, ATR a další kinázy fosforylují v místech poškození DNA histon H2AX (H2A histone family member X) na serinu 139, čímž vzniká γ H2AX (phosphorylated histone H2AX) (Burma et al., 2001; Ward a Chen, 2001). Hlavní funkcí γ H2AX je verbování proteinů a proteinových komplexů zodpovědných za opravu DNA, např. proteinu Rad50, a za rozvolnění chromatinu, např. ubikvitin ligázy RNF8 (RING finger protein 8) (Luijsterburg et al., 2012; Paull et al., 2000).

V jádrech buněk infikovaných BKPyV, MCPyV, MPyV nebo SV40 dochází k aktivaci ATM a ATR. Histon γ H2AX během infekce kolokalizuje s replikující se virovou DNA, na kterou je navázán i LT (v případě MPyV, MCPyV a SV40) či ST (platí pro BKPyV). Tyto interakce zajišťují efektivní replikaci virové DNA a vznik potomstva (Dahl et al., 2005; Jiang et al., 2012; Rohaly et al., 2010; Tsang et al., 2014; Zhao et al., 2008). Experimenty s MPyV však ukázaly, že γ H2AX není potřebný k replikaci viru a morfogenezi virionů a že hlavním faktorem aktivace ATR je LT (Heiser et al., 2016). Signální dráha s ATM zajišťuje oddělení dceřiných minichromozomů a účastní se odpovědi na dvouvláknové zlomy DNA. Signalizace zprostředkovaná ATR umožňuje sbíhání replikačních vidlic (Sowd et al., 2013). Bylo též prokázáno, že MPyV a SV40 využívají ATM, nebo ATR k prodloužení S fáze k produkci potomstva (Dahl et al., 2005; Rohaly et al., 2010).

5 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo popsat strukturu minichromozomů polyomavirů, změny v rozmístění nukleozomů a v kovalentních modifikacích chromatinu a nastínit jejich efekt na chod replikačního cyklu polyomavirů. Po zpracování literatury je zároveň patrné, že tato témata u polyomavirů vyžadují další podrobné zkoumání.

Syntézou poznatků ohledně pozic nukleozomů na minichromozomech lze vyvodit, že nukleozomy nezaujímají náhodné pozice. Minichromozomy nicméně nemají identickou konfiguraci nukleozomů, jednak z důvodu přirozených odchylek, jednak protože jednotlivé epigenomy v daném okamžiku plní pouze některé pomyslné funkce během replikačního cyklu (transkripce, replikace či enkapsidace). V průběhu životního cyklu polyomavirů dochází k přesunům a uvolněním nukleozomů za pomoci transkripčních a remodelačních faktorů s cílem zajistit zdárné dokončení replikačního cyklu.

Stejně jako rozmístění nukleozomů ani modifikace histonů nejsou u všech minichromozomů identické. Určitý počet minichromozomů je tedy vyhrazen pro určitý proces. Kromě SV40 byl vzorec histonových modifikací studován i u BKPyV, konkrétní modifikace však nebyly u tohoto polyomaviru spojovány s děním během životního cyklu. Vedle acetylace, methylace a fosforylace histonů by bylo jistě přínosné studovat vliv i dalších histonových modifikací. Není též známo, jak je replikační cyklus ovlivněn případnými interakcemi polyomavirových proteinů s histon methyltransferázami a demethylázami.

Většina prací na téma rozmístění nukleozomů na minichromozomech je relativně starší, existují však paralely s pracemi recentními. V návaznosti na starší práce by bylo vhodné dále zkoumat NFR a pohyb nukleozomů u SV40, ale také u klinicky významnějších polyomavirů jako např. BKPyV, JCPyV či MCPyV.

Studium zmíněných procesů by mohlo odhalit, které interakce jsou pro zdárnou replikaci a pomnožení viru nepostradatelné. Na některé proteiny účastníci se těchto interakcí by následně mohla být cílena léčba chorob spojených s polyomavirovou infekcí.

Pro komplexní pochopení virového replikačního cyklu by jistě bylo přínosné studium vzájemné závislosti polohy nukleozomů a modifikací histonů. Otázkou také zůstává, do jaké míry je polyomavirus schopen si „ochočit“ buněčný aparát a zda buňka využívá nukleozomy a jejich modifikace k represí viru.

Literatura

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. (2008). *Molecular Biology of the Cell* (New York, NY: Garland Science).
- Alexiadis, V., Halmer, L., and Gruss, C. (1997). Influence of core histone acetylation on SV40 minichromosome replication in vitro. *Chromosoma* 105, 324–331.
- Alexiadis, V., Varga-Weisz, P.D., Bonte, E., Becker, P.B., and Gruss, C. (1998). In vitro chromatin remodelling by chromatin accessibility complex (CHRAC) at the SV40 origin of DNA replication. *EMBO J* 17, 3428–3438.
- Alfonso, P.J., Crippa, M.P., Hayes, J.J., and Bustin, M. (1994). The footprint of chromosomal proteins HMG-14 and HMG-17 on chromatin subunits. *J. Mol. Biol.* 236, 189–198.
- Ambrose, C., Blasquez, V., and Bina, M. (1986). A block in initiation of simian virus 40 assembly results in the accumulation of minichromosomes containing an exposed regulatory region. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83, 3287–3291.
- Ambrose, C., Rajadhyaksha, A., Lowman, H., and Bina, M. (1989). Locations of nucleosomes on the regulatory region of simian virus 40 chromatin. *J. Mol. Biol.* 210, 255–263.
- Ambrose, C., Lowman, H., Rajadhyaksha, A., Blasquez, V., and Bina, M. (1990). Location of nucleosomes in simian virus 40 chromatin. *Journal of Molecular Biology* 214, 875–884.
- Aronheim, A., Zandi, E., Hennemann, H., Elledge, S.J., and Karin, M. (1997). Isolation of an AP-1 repressor by a novel method for detecting protein-protein interactions. *Mol Cell Biol* 17, 3094–3102.
- Arunkumar, A.I., Klimovich, V., Jiang, X., Ott, R.D., Mizoue, L., Fanning, E., and Chazin, W.J. (2005). Insights into hRPA32 C-terminal domain--mediated assembly of the simian virus 40 replisome. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 12, 332–339.
- Avantaggiati, M.L., Carbone, M., Graessmann, A., Nakatani, Y., Howard, B., and Levine, A.S. (1996). The SV40 large T antigen and adenovirus E1a oncoproteins interact with distinct isoforms of the transcriptional co-activator, p300. *EMBO J* 15, 2236–2248.
- Ayer, D.E., and Dynan, W.S. (1988). Simian virus 40 major late promoter: a novel tripartite structure that includes intragenic sequences. *Mol Cell Biol* 8, 2021–2033.
- Bakkenist, C.J., and Kastan, M.B. (2003). DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature* 421, 499–506.
- Balakrishnan, L., and Milavetz, B. (2005). Programmed remodeling of hyperacetylated histone H4 and H3 organization on the SV40 genome during lytic infection. *Virology* 334, 111–123.
- Balakrishnan, L., and Milavetz, B. (2007a). HISTONE HYPERACETYLATION DURING SV40 TRANSCRIPTION IS REGULATED BY p300 AND RNA POLYMERASE II TRANSLOCATION. *J Mol Biol* 371, 1022–1037.
- Balakrishnan, L., and Milavetz, B. (2007b). Histone Hyperacetylation in the coding region of chromatin undergoing transcription in SV40 minichromosomes is a dynamic process directly regulated by the presence of RNA Polymerase II. *J Mol Biol* 365, 18–30.
- Balakrishnan, L., and Milavetz, B. (2008). HDAC inhibitors stimulate viral transcription by multiple mechanisms. *Virol J* 5, 43.
- Balakrishnan, L., and Milavetz, B. (2009). Dual agarose magnetic (DAM) ChIP. *BMC Research Notes* 2, 250.
- Balakrishnan, L., Gefroh, A., and Milavetz, B. (2010). Histone H4 lysine 20 mono- and trimethylation define distinct biological processes in SV40 minichromosomes. *Cell Cycle* 9, 1320–1332.
- Bannister, A.J., and Kouzarides, T. (1996). The CBP co-activator is a histone acetyltransferase. *Nature* 384, 641–643.
- Barrera-Saldaña, H., Takahashi, K., Vigneron, M., Wildeman, A., Davidson, I., and Chambon, P. (1985). All six GC-motifs of the SV40 early upstream element contribute to promoter activity in vivo and in vitro. *EMBO J* 4, 3839–3849.
- Barski, A., Cuddapah, S., Cui, K., Roh, T.-Y., Schones, D.E., Wang, Z., Wei, G., Chepelev, I., and Zhao, K. (2007). High-resolution profiling of histone methylations in the human genome. *Cell* 129, 823–837.

- Bergel, M., Herrera, J.E., Thatcher, B.J., Prymakowska-Bosak, M., Vassilev, A., Nakatani, Y., Martin, B., and Bustin, M. (2000). Acetylation of novel sites in the nucleosomal binding domain of chromosomal protein HMG-14 by p300 alters its interaction with nucleosomes. *J. Biol. Chem.* 275, 11514–11520.
- Bethge, T., Hachemi, H.A., Manzetti, J., Gosert, R., Schaffner, W., and Hirsch, H.H. (2015). Sp1 Sites in the Noncoding Control Region of BK Polyomavirus Are Key Regulators of Bidirectional Viral Early and Late Gene Expression. *J Virol* 89, 3396–3411.
- Bidney, D.L., and Reeck, G.R. (1978). Purification from cultured hepatoma cells of two nonhistone chromatin proteins with preferential affinity for single-stranded DNA: apparent analogy with calf thymus HMG proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 85, 1211–1218.
- Bina, M., Ng, S.-C., and Blasquez, V. (1983). Simian Virus 40 Chromatin Interaction with the Capsid Proteins. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 1, 689–704.
- Blasquez, V., Stein, A., Ambrose, C., and Bina, M. (1986). Simian virus 40 protein VP1 is involved in spacing nucleosomes in minichromosomes. *J. Mol. Biol.* 191, 97–106.
- Bohmann, D., Bos, T.J., Admon, A., Nishimura, T., Vogt, P.K., and Tjian, R. (1987). Human proto-oncogene c-jun encodes a DNA binding protein with structural and functional properties of transcription factor AP-1. *Science* 238, 1386–1392.
- Boija, A., Mahat, D.B., Zare, A., Holmqvist, P.-H., Philip, P., Meyers, D.J., Cole, P.A., Lis, J.T., Stenberg, P., and Mannervik, M. (2017). CBP Regulates Recruitment and Release of Promoter-Proximal RNA Polymerase II. *Mol. Cell* 68, 491–503.e5.
- Bonaldi, T., Längst, G., Strohner, R., Becker, P.B., and Bianchi, M.E. (2002). The DNA chaperone HMGB1 facilitates ACF/CHRAC-dependent nucleosome sliding. *EMBO J* 21, 6865–6873.
- Brady, J., Radonovich, M., Lavialle, C., and Salzman, N.P. (1981a). Simian virus 40 maturation: chromatin modifications increase the accessibility of viral DNA to nuclease and RNA polymerase. *J Virol* 39, 603–611.
- Brady, J., Lavialle, C., Radonovich, M., and Salzman, N. (1981b). Stable association of viral protein VP1 with simian virus 40 DNA. *J Virol* 39, 432–437.
- Brejč, K., Bian, Q., Uzawa, S., Wheeler, B.S., Anderson, E.C., King, D.S., Kranzusch, P.J., Preston, C.G., and Meyer, B.J. (2017). Dynamic Control of X-Chromosome Conformation and Repression by a Histone H4K20 Demethylase. *Cell* 171, 85–102.e23.
- Brennan, D.C., Agha, I., Bohl, D.L., Schnitzler, M.A., Hardinger, K.L., Lockwood, M., Torrence, S., Schuessler, R., Roby, T., Gaudreault-Keener, M., et al. (2005). Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am. J. Transplant.* 5, 582–594.
- Buck, C.B., Van Doorslaer, K., Peretti, A., Geoghegan, E.M., Tisza, M.J., An, P., Katz, J.P., Pipas, J.M., McBride, A.A., Camus, A.C., et al. (2016). The Ancient Evolutionary History of Polyomaviruses. *PLoS Pathog* 12.
- Burma, S., Chen, B.P., Murphy, M., Kurimasa, A., and Chen, D.J. (2001). ATM phosphorylates histone H2AX in response to DNA double-strand breaks. *J. Biol. Chem.* 276, 42462–42467.
- Calvignac-Spencer, S., Polyomaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Feltkamp, M.C.W., Daugherty, M.D., Moens, U., Ramqvist, T., Johne, R., and Ehlers, B. (2016). A taxonomy update for the family Polyomaviridae. *Arch. Virol.* 161, 1739–1750.
- Caporali, S., Falcinelli, S., Starace, G., Russo, M.T., Bonmassar, E., Jiricny, J., and D'Atri, S. (2004). DNA damage induced by temozolomide signals to both ATM and ATR: role of the mismatch repair system. *Mol. Pharmacol.* 66, 478–491.
- Carbone, M., Ascione, G., Chichiarelli, S., Garcia, M.-I., Eufemi, M., and Amati, P. (2004). Chromosome-Protein Interactions in Polyomavirus Virions. *J Virol* 78, 513–519.
- Catena, R., Escoffier, E., Caron, C., Khochbin, S., Martianov, I., and Davidson, I. (2009). HMGB4, a Novel Member of the HMGB Family, Is Preferentially Expressed in the Mouse Testis and Localizes to the Basal Pole of Elongating Spermatids. *Biol Reprod* 80, 358–366.
- Catez, F., Yang, H., Tracey, K.J., Reeves, R., Misteli, T., and Bustin, M. (2004). Network of Dynamic Interactions between Histone H1 and High-Mobility-Group Proteins in Chromatin. *Mol Cell Biol* 24, 4321–4328.

- Cato, L., Stott, K., Watson, M., and Thomas, J.O. (2008). The interaction of HMGB1 and linker histones occurs through their acidic and basic tails. *J. Mol. Biol.* 384, 1262–1272.
- Chang, C.-F., Wang, M., Fang, C.-Y., Chen, P.-L., Wu, S.-F., Chan, M.W.Y., and Chang, D. (2011). Analysis of DNA methylation in human BK virus. *Virus Genes* 43, 201–207.
- Chellappan, S., Kraus, V.B., Kroger, B., Munger, K., Howley, P.M., Phelps, W.C., and Nevins, J.R. (1992). Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between transcription factor E2F and the retinoblastoma gene product. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89, 4549–4553.
- Chen, Y.H., MacGregor, J.P., Goldstein, D.A., and Hall, M.R. (1979). Histone modifications in simian virus 40 and in nucleoprotein complexes containing supercoiled viral DNA. *J Virol* 30, 218–224.
- Chen, Y.-J., Wang, Y.-N., and Chang, W.-C. (2007). ERK2-mediated C-terminal serine phosphorylation of p300 is vital to the regulation of epidermal growth factor-induced keratin 16 gene expression. *J. Biol. Chem.* 282, 27215–27228.
- Chesters, P.M., Heritage, J., and McCance, D.J. (1983). Persistence of DNA sequences of BK virus and JC virus in normal human tissues and in diseased tissues. *J. Infect. Dis.* 147, 676–684.
- Chrivia, J.C., Kwok, R.P.S., Lamb, N., Hagiwara, M., Montminy, M.R., and Goodman, R.H. (1993). Phosphorylated CREB binds specifically to the nuclear protein CBP. *Nature* 365, 855–859.
- Clever, J., and Kasamatsu, H. (1991). Simian virus 40 Vp2/3 small structural proteins harbor their own nuclear transport signal. *Virology* 181, 78–90.
- Comerford, S.A., Schultz, N., Hinnant, E.A., Klapproth, S., and Hammer, R.E. (2012). Comparative analysis of SV40 17kT and LT function in vivo demonstrates that LT's C-terminus reprograms hepatic gene expression and is necessary for tumorigenesis in the liver. *Oncogenesis* 1, e28.
- Contreras, R., Rogiers, R., Van de Voorde, A., and Fiers, W. (1977). Overlapping of the VP2-VP3 gene and the VP1 gene in the SV40 genome. *Cell* 12, 529–538.
- Crémisi, C. (1981). The appearance of DNase I hypersensitive sites at the 5' end of the late SV40 genes is correlated with the transcriptional switch. *Nucleic Acids Res* 9, 5949–5964.
- Crippa, M.P., Trieschmann, L., Alfonso, P.J., Wolffe, A.P., and Bustin, M. (1993). Deposition of chromosomal protein HMG-17 during replication affects the nucleosomal ladder and transcriptional potential of nascent chromatin. *EMBO J* 12, 3855–3864.
- Dahl, J., You, J., and Benjamin, T.L. (2005). Induction and Utilization of an ATM Signaling Pathway by Polyomavirus. *J Virol* 79, 13007–13017.
- Daniels, R., Sadowicz, D., and Hebert, D.N. (2007). A very late viral protein triggers the lytic release of SV40. *PLoS Pathog.* 3, e98.
- Deb, S., DeLucia, A.L., Baur, C.P., Koff, A., and Tegtmeyer, P. (1986). Domain structure of the simian virus 40 core origin of replication. *Mol Cell Biol* 6, 1663–1670.
- Dilworth, S.M., Brewster, C.E.P., Jones, M.D., Lanfrancone, L., Pelicci, G., and Pelicci, P.G. (1994). Transformation by polyoma virus middle T-antigen involves the binding and tyrosine phosphorylation of Shc. *Nature* 367, 87–90.
- DiMaio, D., and Nathans, D. (1982). Regulatory mutants of simian virus 40. Effect of mutations at a T antigen binding site on DNA replication and expression of viral genes. *J. Mol. Biol.* 156, 531–548.
- Ding, H., Rimsky, S., Batson, S.C., Bustin, M., and Hansen, U. (1994). Stimulation of RNA polymerase II elongation by chromosomal protein HMG-14. *Science* 265, 796–799.
- Ding, H.F., Bustin, M., and Hansen, U. (1997). Alleviation of histone H1-mediated transcriptional repression and chromatin compaction by the acidic activation region in chromosomal protein HMG-14. *Mol Cell Biol* 17, 5843–5855.
- Dodson, M., Dean, F.B., Bullock, P., Echols, H., and Hurwitz, J. (1987). Unwinding of duplex DNA from the SV40 origin of replication by T antigen. *Science* 238, 964–967.
- Doetzlhofer, A., Rotheneder, H., Lagner, G., Koranda, M., Kurtev, V., Brosch, G., Wintersberger, E., and Seiser, C. (1999). Histone Deacetylase 1 Can Repress Transcription by Binding to Sp1. *Mol Cell Biol* 19, 5504–5511.
- Doherty, J., and Freund, R. (1997). Polyomavirus large T antigen overcomes p53 dependent growth arrest. *Oncogene* 14, 1923–1931.

- Dornreiter, I., Höss, A., Arthur, A.K., and Fanning, E. (1990). SV40 T antigen binds directly to the large subunit of purified DNA polymerase alpha. *EMBO J* 9, 3329–3336.
- Drachenberg, C.B., Papadimitriou, J.C., Hirsch, H.H., Wali, R., Crowder, C., Nogueira, J., Cangro, C.B., Mendley, S., Mian, A., and Ramos, E. (2004). Histological patterns of polyomavirus nephropathy: correlation with graft outcome and viral load. *Am. J. Transplant.* 4, 2082–2092.
- Ebrahimi, A., Sevinç, K., Sevinç, G.G., Cribbs, A.P., Philpott, M., Uyulur, F., Morova, T., Dunford, J.E., Göklemez, S., Arı, Ş., et al. (2019). Bromodomain inhibition of the coactivators CBP/EP300 facilitate cellular reprogramming. *Nat Chem Biol* 15, 519–528.
- Eckner, R., Ludlow, J.W., Lill, N.L., Oldread, E., Arany, Z., Modjtahedi, N., DeCaprio, J.A., Livingston, D.M., and Morgan, J.A. (1996). Association of p300 and CBP with simian virus 40 large T antigen. *Mol Cell Biol* 16, 3454–3464.
- Estève, P.-O., Chin, H.G., Smallwood, A., Feehery, G.R., Gangisetty, O., Karpf, A.R., Carey, M.F., and Pradhan, S. (2006). Direct interaction between DNMT1 and G9a coordinates DNA and histone methylation during replication. *Genes Dev* 20, 3089–3103.
- Everett, R.D., Baty, D., and Chambon, P. (1983). The repeated GC-rich motifs upstream from the TATA box are important elements of the SV40 early promoter. *Nucleic Acids Res* 11, 2447–2464.
- Fang, C.-Y., Shen, C.-H., Wang, M., Chen, P.-L., Chan, M.W.Y., Hsu, P.-H., and Chang, D. (2015). Global profiling of histone modifications in the polyomavirus BK virion minichromosome. *Virology* 483, 1–12.
- Farmer, G., Bargonetti, J., Zhu, H., Friedman, P., Prywes, R., and Prives, C. (1992). Wild-type p53 activates transcription in vitro. *Nature* 358, 83–86.
- Fonfría-Subirós, E., Acosta-Reyes, F., Saperas, N., Pous, J., Subirana, J.A., and Campos, J.L. (2012). Crystal structure of a complex of DNA with one AT-hook of HMGA1. *PLoS ONE* 7, e37120.
- Friez, M., Hermansen, R., and Milavetz, B. (1999). Chromatin Structure of the Simian Virus 40 Late Promoter: a Deletional Analysis. *J Virol* 73, 1990–1997.
- Fromm, M., and Berg, P. (1982). Deletion mapping of DNA regions required for SV40 early region promoter function in vivo. *J. Mol. Appl. Genet.* 1, 457–481.
- Gai, D., Roy, R., Wu, C., and Simmons, D.T. (2000). Topoisomerase I Associates Specifically with Simian Virus 40 Large-T-Antigen Double Hexamer-Origin Complexes. *J Virol* 74, 5224–5232.
- Galbiati, L., Mendoza-Maldonado, R., Gutierrez, M.I., and Giacca, M. (2005). Regulation of E2F-1 after DNA damage by p300-mediated acetylation and ubiquitination. *Cell Cycle* 4, 930–939.
- Gardner, S.D., Field, A.M., Coleman, D.V., and Hulme, B. (1971). New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1, 1253–1257.
- Ge, H., and Roeder, R.G. (1994). The high mobility group protein HMGI can reversibly inhibit class II gene transcription by interaction with the TATA-binding protein. *J. Biol. Chem.* 269, 17136–17140.
- Geetha, D., Tong, B.C., Racusen, L., Markowitz, J.S., and Westra, W.H. (2002). Bladder carcinoma in a transplant recipient: evidence to implicate the BK human polyomavirus as a causal transforming agent. *Transplantation* 73, 1933–1936.
- Geiger, R., Andrichke, D., Friebe, S., Herzog, F., Luisoni, S., Heger, T., and Helenius, A. (2011). BAP31 and BiP are essential for dislocation of SV40 from the endoplasmic reticulum to the cytosol. *Nat. Cell Biol.* 13, 1305–1314.
- Gentz, R., Rauscher, F.J., Abate, C., and Curran, T. (1989). Parallel association of Fos and Jun leucine zippers juxtaposes DNA binding domains. *Science* 243, 1695–1699.
- Gerits, N., Johannessen, M., Tümmeler, C., Walquist, M., Kostenko, S., Snapkov, I., van Loon, B., Ferrari, E., Hübscher, U., and Moens, U. (2015). Agnoprotein of polyomavirus BK interacts with proliferating cell nuclear antigen and inhibits DNA replication. *Virol. J.* 12, 7.
- Gosert, R., Rinaldo, C.H., Funk, G.A., Egli, A., Ramos, E., Drachenberg, C.B., and Hirsch, H.H. (2008). Polyomavirus BK with rearranged noncoding control region emerge in vivo in renal transplant patients and increase viral replication and cytopathology. *J. Exp. Med.* 205, 841–852.
- Gross, L. (1953). A filterable agent, recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 83, 414–421.

- Gu, Z.-Y., Li, Q., Si, Y.-L., Li, X., Hao, H.-J., and Song, H.-J. (2003). Prevalence of BK virus and JC virus in peripheral blood leukocytes and normal arterial walls in healthy individuals in China. *J. Med. Virol.* *70*, 600–605.
- Hardman, C.H., Broadhurst, R.W., Raine, A.R., Grasser, K.D., Thomas, J.O., and Laue, E.D. (1995). Structure of the A-domain of HMG1 and its interaction with DNA as studied by heteronuclear three- and four-dimensional NMR spectroscopy. *Biochemistry* *34*, 16596–16607.
- Heiser, K., Nicholas, C., and Garcea, R.L. (2016). Activation of DNA Damage Repair Pathways by Murine Polyomavirus. *Virology* *497*, 346–356.
- Herbomel, P., Saragosti, S., Blangy, D., and Yaniv, M. Fine Structure of the Origin-Proximal DNAase I-Hypersensitive Region in Wild-type and EC Mutant Polyoma. *8*.
- Herrera, J.E., Sakaguchi, K., Bergel, M., Trieschmann, L., Nakatani, Y., and Bustin, M. (1999). Specific Acetylation of Chromosomal Protein HMG-17 by PCAF Alters Its Interaction with Nucleosomes. *Mol Cell Biol* *19*, 3466–3473.
- Hertz, G.Z., and Mertz, J.E. (1986). Bidirectional promoter elements of simian virus 40 are required for efficient replication of the viral DNA. *Mol Cell Biol* *6*, 3513–3522.
- Hong, L., Schroth, G.P., Matthews, H.R., Yau, P., and Bradbury, E.M. (1993). Studies of the DNA binding properties of histone H4 amino terminus. Thermal denaturation studies reveal that acetylation markedly reduces the binding constant of the H4 “tail” to DNA. *J. Biol. Chem.* *268*, 305–314.
- Hu, Y.F., Lüscher, B., Admon, A., Mermod, N., and Tjian, R. (1990). Transcription factor AP-4 contains multiple dimerization domains that regulate dimer specificity. *Genes Dev.* *4*, 1741–1752.
- Hurdiss, D.L., Morgan, E.L., Thompson, R.F., Prescott, E.L., Panou, M.M., Macdonald, A., and Ranson, N.A. (2016). New Structural Insights into the Genome and Minor Capsid Proteins of BK Polyomavirus using Cryo-Electron Microscopy. *Structure* *24*, 528–536.
- Hyde-DeRuyscher, R.P., and Carmichael, G.G. (1990). Polyomavirus late pre-mRNA processing: DNA replication-associated changes in leader exon multiplicity suggest a role for leader-to-leader splicing in the early-late switch. *J. Virol.* *64*, 5823–5832.
- Iguchi-Ariga, S.M., and Schaffner, W. (1989). CpG methylation of the cAMP-responsive enhancer/promoter sequence TGACGTCA abolishes specific factor binding as well as transcriptional activation. *Genes Dev.* *3*, 612–619.
- Ilyinskii, P.O., Daniel, M.D., Horvath, C.J., and Desrosiers, R.C. (1992). Genetic analysis of simian virus 40 from brains and kidneys of macaque monkeys. *J Virol* *66*, 6353–6360.
- Inoue, T., and Tsai, B. (2011). A large and intact viral particle penetrates the endoplasmic reticulum membrane to reach the cytosol. *PLoS Pathog.* *7*, e1002037.
- Ishii, N., Minami, N., Chen, E.Y., Medina, A.L., Chico, M.M., and Kasamatsu, H. (1996). Analysis of a nuclear localization signal of simian virus 40 major capsid protein Vp1. *J Virol* *70*, 1317–1322.
- Ito, Y., Brocklehurst, J.R., and Dulbecco, R. (1977). Virus-specific proteins in the plasma membrane of cells lytically infected or transformed by pol-oma virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *74*, 4666–4670.
- Iversen, L., Tu, H.-L., Lin, W.-C., Christensen, S.M., Abel, S.M., Iwig, J., Wu, H.-J., Gureasko, J., Rhodes, C., Petit, R.S., et al. (2014). Ras activation by SOS: Allosteric regulation by altered fluctuation dynamics. *Science* *345*, 50–54.
- Iyer, V., and Struhl, K. (1995). Poly(dA:dT), a ubiquitous promoter element that stimulates transcription via its intrinsic DNA structure. *EMBO J* *14*, 2570–2579.
- Jakobovits, E.B., Bratosin, S., and Aloni, Y. (1980). A nucleosome-free region in SV40 minichromosomes. *Nature* *285*, 263–265.
- Jay, G., Nomura, S., Anderson, C.W., and Khoury, G. (1981). Identification of the SV40 agnogene product: a DNA binding protein. *Nature* *291*, 346–349.
- Jiang, M., Zhao, L., Gamez, M., and Imperiale, M.J. (2012). Roles of ATM and ATR-Mediated DNA Damage Responses during Lytic BK Polyomavirus Infection. *PLoS Pathog* *8*.
- Johnston, S.D., Yu, X.M., and Mertz, J.E. (1996). The major transcriptional transactivation domain of simian virus 40 large T antigen associates nonconcurrently with multiple components of the transcriptional preinitiation complex. *J. Virol.* *70*, 1191–1202.

- Jongstra, J., Reudelhuber, T.L., Oudet, P., Benoist, C., Chae, C.B., Jeltsch, J.M., Mathis, D.J., and Chambon, P. (1984). Induction of altered chromatin structures by simian virus 40 enhancer and promoter elements. *Nature* 307, 708–714.
- Kadam, S., McAlpine, G.S., Phelan, M.L., Kingston, R.E., Jones, K.A., and Emerson, B.M. (2000). Functional selectivity of recombinant mammalian SWI/SNF subunits. *Genes Dev* 14, 2441–2451.
- Kakimoto, Y., and Akazawa, S. (1970). Isolation and identification of N-G,N-G- and N-G,N'-G-dimethyl-arginine, N-epsilon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. *J. Biol. Chem.* 245, 5751–5758.
- Kallestad, L., Woods, E., Christensen, K., Gefroh, A., Balakrishnan, L., and Milavetz, B. (2013). Transcription and replication result in distinct epigenetic marks following repression of early gene expression. *Front Genet* 4.
- Kallestad, L., Christensen, K., Woods, E., and Milavetz, B. (2014). Transcriptional repression is epigenetically marked by H3K9 methylation during SV40 replication. *Clin Epigenetics* 6.
- Kassem, A., Technau, K., Kurz, A.K., Pantulu, D., Löning, M., Kayser, G., Stickeler, E., Weyers, W., Diaz, C., Werner, M., et al. (2009). Merkel cell polyomavirus sequences are frequently detected in nonmelanoma skin cancer of immunosuppressed patients. *Int. J. Cancer* 125, 356–361.
- Kato, H., van Ingen, H., Zhou, B.-R., Feng, H., Bustin, M., Kay, L.E., and Bai, Y. (2011). Architecture of the high mobility group nucleosomal protein 2-nucleosome complex as revealed by methyl-based NMR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 12283–12288.
- Kelly, J.J., and Wildeman, A.G. (1991). Role of the SV40 enhancer in the early to late shift in viral transcription. *Nucleic Acids Res* 19, 6799–6804.
- Kerppola, T.K., and Curran, T. (1991). Fos-Jun heterodimers and Jun homodimers bend DNA in opposite orientations: implications for transcription factor cooperativity. *Cell* 66, 317–326.
- Kim, J., Woolridge, S., Biffi, R., Borghi, E., Lassak, A., Ferrante, P., Amini, S., Khalili, K., and Safak, M. (2003a). Members of the AP-1 Family, c-Jun and c-Fos, Functionally Interact with JC Virus Early Regulatory Protein Large T Antigen. *Journal of Virology* 77, 5241–5252.
- Kim, S.-Y., Woo, M.-S., Kim, W.-K., Choi, E.-C., Henson, J.W., and Kim, H.-S. (2003b). Glial Cell-Specific Regulation of the JC Virus Early Promoter by Histone Deacetylase Inhibitors. *J Virol* 77, 3394–3401.
- Koralnik, I.J., Schellingerhout, D., and Frosch, M.P. (2004). Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Case 14-2004. A 66-year-old man with progressive neurologic deficits. *N. Engl. J. Med.* 350, 1882–1893.
- Krauzewicz, N., Streuli, C.H., Stuart-Smith, N., Jones, M.D., Wallace, S., and Griffin, B.E. (1990). Myristylated polyomavirus VP2: role in the life cycle of the virus. *J Virol* 64, 4414–4420.
- Kube, D., and Milavetz, B. (1996). Differential regulation by SV40 T-antigen binding at site I defines two distinct classes of nucleosome-free promoter. *Anat. Rec.* 244, 28–32.
- Kumar, M.A., Christensen, K., Woods, B., Dettlaff, A., Perley, D., Scheidegger, A., Balakrishnan, L., and Milavetz, B. (2017). Nucleosome positioning in the regulatory region of SV40 chromatin correlates with the activation and repression of early and late transcription during infection. *Virology* 503, 62–69.
- Kumar, M.A., Kasti, K., Balakrishnan, L., and Milavetz, B. (2019). Directed Nucleosome Sliding during the Formation of the Simian Virus 40 Particle Exposes DNA Sequences Required for Early Transcription. *J Virol* 93.
- Kwok, R.P., Lundblad, J.R., Chrivia, J.C., Richards, J.P., Bächinger, H.P., Brennan, R.G., Roberts, S.G., Green, M.R., and Goodman, R.H. (1994). Nuclear protein CBP is a coactivator for the transcription factor CREB. *Nature* 370, 223–226.
- La Bella, F., Romani, M., Vesco, C., and Vidali, G. (1981). High mobility group proteins 1 and 2 are present in simian virus 40 provirions, but not in virions. *Nucleic Acids Res* 9, 121–131.
- Landsman, D., and Bustin, M. (1986). Chromosomal proteins HMG-14 and HMG-17. Distinct multigene families coding for similar types of transcripts. *J. Biol. Chem.* 261, 16087–16091.
- Lanuszewska, J., and Widlak, P. (2000). High mobility group 1 and 2 proteins bind preferentially to DNA that contains bulky adducts induced by benzo[a]pyrene diol epoxide and N-acetoxy-acetylaminofluorene. *Cancer Lett.* 158, 17–25.

- Lednický, J.A., and Butel, J.S. (2011). Polyomavirus. In *The Springer Index of Viruses*, C. Tidona, and G. Darai, eds. (New York, NY: Springer New York), pp. 1401–1409.
- Lee, D.Y., Hayes, J.J., Pruss, D., and Wolffe, A.P. (1993). A positive role for histone acetylation in transcription factor access to nucleosomal DNA. *Cell* 72, 73–84.
- Li, B., Adams, C.C., and Workman, J.L. (1994). Nucleosome binding by the constitutive transcription factor Sp1. *J. Biol. Chem.* 269, 7756–7763.
- Li, P.P., Nakanishi, A., Shum, D., Sun, P.C.-K., Salazar, A.M., Fernandez, C.F., Chan, S.-W., and Kasamatsu, H. (2001). Simian Virus 40 Vp1 DNA-Binding Domain Is Functionally Separable from the Overlapping Nuclear Localization Signal and Is Required for Effective Virion Formation and Full Viability. *J Virol* 75, 7321–7329.
- Liddington, R.C., Yan, Y., Moulai, J., Sahli, R., Benjamin, T.L., and Harrison, S.C. (1991). Structure of simian virus 40 at 3.8-Å resolution. *Nature* 354, 278–284.
- Litt, M.D., Simpson, M., Gaszner, M., Allis, C.D., and Felsenfeld, G. (2001). Correlation between histone lysine methylation and developmental changes at the chicken beta-globin locus. *Science* 293, 2453–2455.
- Liu, R., Liu, H., Chen, X., Kirby, M., Brown, P.O., and Zhao, K. (2001). Regulation of CSF1 promoter by the SWI/SNF-like BAF complex. *Cell* 106, 309–318.
- Louie, D.F., Gloor, K.K., Galasinski, S.C., Resing, K.A., and Ahn, N.G. (2000). Phosphorylation and subcellular redistribution of high mobility group proteins 14 and 17, analyzed by mass spectrometry. *Protein Sci* 9, 170–179.
- Lu, W., Peterson, R., Dasgupta, A., and Scovell, W.M. (2000). Influence of HMG-1 and Adenovirus Oncoprotein E1A on Early Stages of Transcriptional Preinitiation Complex Assembly. *J. Biol. Chem.* 275, 35006–35012.
- Luijsterburg, M.S., Acs, K., Ackermann, L., Wiegant, W.W., Bekker-Jensen, S., Larsen, D.H., Khanna, K.K., van Attikum, H., Mailing, N., and Dantuma, N.P. (2012). A new non-catalytic role for ubiquitin ligase RNF8 in unfolding higher-order chromatin structure. *EMBO J* 31, 2511–2527.
- Manning, E.T., Ikehara, T., Ito, T., Kadonaga, J.T., and Kraus, W.L. (2001). p300 Forms a Stable, Template-Committed Complex with Chromatin: Role for the Bromodomain. *Mol Cell Biol* 21, 3876–3887.
- Marcellus, R., Whitfield, J., and Raptis, L. (1991). Polyoma virus middle tumor antigen stimulates membrane-associated protein kinase C at lower levels than required for phosphatidylinositol kinase activation and neoplastic transformation. *Oncogene* 6, 1037–1040.
- Markowitz, R.B., Thompson, H.C., Mueller, J.F., Cohen, J.A., and Dynan, W.S. (1993). Incidence of BK virus and JC virus viremia in human immunodeficiency virus-infected and -uninfected subjects. *J. Infect. Dis.* 167, 13–20.
- Mathis, D.J., Kindelis, A., and Spadafora, C. (1980). HMG proteins (1 + 2) form beaded structures when complexed with closed circular DNA. *Nucleic Acids Res* 8, 2577–2590.
- van der Meijden, E., Kazem, S., Dargel, C.A., van Vuren, N., Hensbergen, P.J., and Feltkamp, M.C.W. (2015). Characterization of T Antigens, Including Middle T and Alternative T, Expressed by the Human Polyomavirus Associated with Trichodysplasia Spinulosa. *J Virol* 89, 9427–9439.
- Mermod, N., Williams, T.J., and Tjian, R. (1988). Enhancer binding factors AP-4 and AP-1 act in concert to activate SV40 late transcription in vitro. *Nature* 332, 557–561.
- Milavetz, B. (1986). Analysis of the origin-specific nucleosome-free region in SV40 encapsidation intermediates. *Virology* 153, 310–313.
- Milavetz, B. (2004). Hyperacetylation and differential deacetylation of histones H4 and H3 define two distinct classes of acetylated SV40 chromosomes early in infection. *Virology* 319, 324–336.
- Milavetz, B.I. (2002). SP1 and AP-1 elements direct chromatin remodeling in SV40 chromosomes during the first 6 hours of infection. *Virology* 294, 170–179.
- Milavetz, B., Kallestad, L., Gefroh, A., Adams, N., Wood, E., and Balakrishnan, L. (2012). Virion-mediated transfer of SV40 epigenetic information. *Epigenetics* 7, 528–534.
- Moens, U., Calvignac-Spencer, S., Lauber, C., Ramqvist, T., Feltkamp, M.C.W., Daugherty, M.D., Verschoor, E.J., and Ehlers, B. (2017). ICTV Virus Taxonomy Profile: Polyomaviridae. *J Gen Virol* 98, 1159–1160.

- Mudrak, I., Ogris, E., Rotheneder, H., and Wintersberger, E. (1994). Coordinated trans activation of DNA synthesis- and precursor-producing enzymes by polyomavirus large T antigen through interaction with the retinoblastoma protein. *Mol Cell Biol* 14, 1886–1892.
- Murphy, K.J., Cutter, A.R., Fang, H., Postnikov, Y.V., Bustin, M., and Hayes, J.J. (2017). HMGN1 and 2 remodel core and linker histone tail domains within chromatin. *Nucleic Acids Res* 45, 9917–9930.
- Nakajima, T., Matsuoka, Y., and Kakimoto, Y. (1971). Isolation and identification of N-G-monomethyl, N-G, N-G-dimethyl- and N-G,N' G-dimethylarginine from the hydrolysate of proteins of bovine brain. *Biochim. Biophys. Acta* 230, 212–222.
- Nakanishi, A., Clever, J., Yamada, M., Li, P.P., and Kasamatsu, H. (1996). Association with capsid proteins promotes nuclear targeting of simian virus 40 DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 96–100.
- Nan, X., Meehan, R.R., and Bird, A. (1993). Dissection of the methyl-CpG binding domain from the chromosomal protein MeCP2. *Nucleic Acids Res* 21, 4886–4892.
- Nan, X., Ng, H.H., Johnson, C.A., Laherty, C.D., Turner, B.M., Eisenman, R.N., and Bird, A. (1998). Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* 393, 386–389.
- Neish, A.S., Anderson, S.F., Schlegel, B.P., Wei, W., and Parvin, J.D. (1998). Factors associated with the mammalian RNA polymerase II holoenzyme. *Nucleic Acids Res.* 26, 847–853.
- Ng, K.W., Ridgway, P., Cohen, D.R., and Tremethick, D.J. (1997). The binding of a Fos/Jun heterodimer can completely disrupt the structure of a nucleosome. *EMBO J* 16, 2072–2085.
- Nicholson, P.R., Empereur, S., Glover, H.R., and Dilworth, S.M. (2001). ShcA tyrosine phosphorylation sites can replace ShcA binding in signalling by middle T-antigen. *EMBO J* 20, 6337–6346.
- Nikolaou, K.C., Moulos, P., Harokopos, V., Chalepakos, G., and Talianidis, I. (2017). Kmt5a Controls Hepatic Metabolic Pathways by Facilitating RNA Pol II Release from Promoter-Proximal Regions. *Cell Rep* 20, 909–922.
- Nordheim, A., and Rich, A. (1983). Negatively supercoiled simian virus 40 DNA contains Z-DNA segments within transcriptional enhancer sequences. *Nature* 303, 674–679.
- Ogris, E., Mudrak, I., Mak, E., Gibson, D., and Pallas, D.C. (1999). Catalytically Inactive Protein Phosphatase 2A Can Bind to Polyomavirus Middle Tumor Antigen and Support Complex Formation with pp60c-src. *Journal of Virology* 73, 7390–7398.
- Oh, S.Y., Amalfitano, A., Friderici, K., Chen, M.C., and Fluck, M.M. (1990). Low probability of double integration in transformation of nonpermissive cells by polyomavirus. *J Virol* 64, 1304–1313.
- Oka, S., Shiraishi, Y., Yoshida, T., Ohkubo, T., Sugiura, Y., and Kobayashi, Y. (2004). NMR structure of transcription factor Sp1 DNA binding domain. *Biochemistry* 43, 16027–16035.
- Okada, Y., Endo, S., Takahashi, H., Sawa, H., Umemura, T., and Nagashima, K. (2001). Distribution and function of JCV agnoprotein. *J. Neurovirol.* 7, 302–306.
- Ong, S.H., Dilworth, S., Hauck-Schmalenberger, I., Pawson, T., and Kiefer, F. (2001). ShcA and Grb2 mediate polyoma middle T antigen-induced endothelial transformation and Gab1 tyrosine phosphorylation. *EMBO J* 20, 6327–6336.
- Ozer, H.L., Slater, M.L., Dermody, J.J., and Mandel, M. (1981). Replication of simian virus 40 DNA in normal human fibroblasts and in fibroblasts from xeroderma pigmentosum. *J Virol* 39, 481–489.
- Padgett, B.L., Walker, D.L., ZuRhein, G.M., Eckroade, R.J., and Dessel, B.H. (1971). Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy. *Lancet* 1, 1257–1260.
- Paik, W.K., and Kim, S. (1968). Protein Methylase I PURIFICATION AND PROPERTIES OF THE ENZYME. *J. Biol. Chem.* 243, 2108–2114.
- Palvimo, J., Mahonen, A., and Mäenpää, P.H. (1987). Phosphorylation of high-mobility-group chromatin proteins by protein kinase C from rat brain. *Biochim. Biophys. Acta* 931, 376–383.
- Paull, T.T., Haykinson, M.J., and Johnson, R.C. (1993). The nonspecific DNA-binding and -bending proteins HMG1 and HMG2 promote the assembly of complex nucleoprotein structures. *Genes Dev.* 7, 1521–1534.

- Paull, T.T., Rogakou, E.P., Yamazaki, V., Kirchgessner, C.U., Gellert, M., and Bonner, W.M. (2000). A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage. *Curr. Biol.* 10, 886–895.
- Pil, P.M., Chow, C.S., and Lippard, S.J. (1993). High-mobility-group 1 protein mediates DNA bending as determined by ring closures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 9465–9469.
- Poljak, L.G., and Gralla, J.D. (1987). Competition for formation of nucleosomes on fragmented SV40 DNA: a hyperstable nucleosome forms on the termination region. *Biochemistry* 26, 295–303.
- Ramamoorthy, S., Devaraj, B., Miyai, K., Luo, L., Liu, Y.-T., Boland, C.R., Goel, A., and Carethers, J.M. (2011). John Cunningham virus T-antigen expression in anal carcinoma. *Cancer* 117, 2379–2385.
- Rayment, I., Baker, T.S., Caspar, D.L.D., and Murakami, W.T. (1982). Polyoma virus capsid structure at 22.5 Å resolution. *Nature* 295, 110–115.
- Reddy, V.B., Thimmapaya, B., Dhar, R., Subramanian, K.N., Zain, B.S., Pan, J., Ghosh, P.K., Celma, M.L., and Weissman, S.M. (1978). The genome of simian virus 40. *Science* 200, 494–502.
- Rinaldo, C.H., Traavik, T., and Hey, A. (1998). The Agnogene of the Human Polyomavirus BK Is Expressed. *Journal of Virology* 72, 6233–6236.
- Robinson, G.W., and Hallick, L.M. (1982). Mapping the in vivo arrangement of nucleosomes on simian virus 40 chromatin by the photoaddition of radioactive hydroxymethyltrimethylpsoralen. *J Virol* 41, 78–87.
- Rohaly, G., Korf, K., Dehde, S., and Dornreiter, I. (2010). Simian Virus 40 Activates ATR-Δp53 Signaling To Override Cell Cycle and DNA Replication Control. *J Virol* 84, 10727–10747.
- Rossi, A., Delbue, S., Mazziotti, R., Valli, M., Borghi, E., Mancuso, R., Calvo, M.G., and Ferrante, P. (2007). Presence, quantitation and characterization of JC virus in the urine of Italian immunocompetent subjects. *Journal of Medical Virology* 79, 408–412.
- Rozakis-Adcock, M., McGlade, J., Mbamalu, G., Pelicci, G., Daly, R., Li, W., Batzer, A., Thomas, S., Brugge, J., Pelicci, P.G., et al. (1992). Association of the Shc and Grb2/Sem5 SH2-containing proteins is implicated in activation of the Ras pathway by tyrosine kinases. *Nature* 360, 689–692.
- Ruan, K., Yamamoto, T.G., Asakawa, H., Chikashige, Y., Kimura, H., Masukata, H., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y. (2015). Histone H4 acetylation required for chromatin decompaction during DNA replication. *Sci Rep* 5, 12720.
- Sadowska, B., Barrucco, R., Khalili, K., and Safak, M. (2003). Regulation of Human Polyomavirus JC Virus Gene Transcription by AP-1 in Glial Cells. *J Virol* 77, 665–672.
- Sáenz Robles, M.T., Shivalila, C., Wano, J., Sorrells, S., Roos, A., and Pipas, J.M. (2013). Two Independent Regions of Simian Virus 40 T Antigen Increase CBP/p300 Levels, Alter Patterns of Cellular Histone Acetylation, and Immortalize Primary Cells. *J Virol* 87, 13499–13509.
- Sandalon, Z., and Oppenheim, A. (1997). Self-assembly and protein-protein interactions between the SV40 capsid proteins produced in insect cells. *Virology* 237, 414–421.
- Saper, G., Kler, S., Asor, R., Oppenheim, A., Raviv, U., and Harries, D. (2013). Effect of capsid confinement on the chromatin organization of the SV40 minichromosome. *Nucleic Acids Res* 41, 1569–1580.
- Saragosti, S., Moyne, G., and Yaniv, M. (1980). Absence of nucleosomes in a fraction of SV40 chromatin between the origin of replication and the region coding for the late leader RNA. *Cell* 20, 65–73.
- Saribas, A.S., White, M.K., and Safak, M. (2012). JC virus agnoprotein enhances large T antigen binding to the origin of viral DNA replication: evidence for its involvement in viral DNA replication. *Virology* 433, 12–26.
- Satchwell, S.C., Drew, H.R., and Travers, A.A. (1986). Sequence periodicities in chicken nucleosome core DNA. *J. Mol. Biol.* 191, 659–675.
- Schaffhausen, B.S., and Benjamin, T.L. (1976). Deficiency in histone acetylation in nontransforming host range mutants of polyoma virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 73, 1092–1096.
- Schowalter, R.M., and Buck, C.B. (2013). The Merkel Cell Polyomavirus Minor Capsid Protein. *PLoS Pathog* 9.

- Schumacher, M.A., Goodman, R.H., and Brennan, R.G. (2000). The structure of a CREB bZIP.somatostatin CRE complex reveals the basis for selective dimerization and divalent cation-enhanced DNA binding. *J. Biol. Chem.* 275, 35242–35247.
- Segarra-Newnham, M., and Vodolo, K.M. (2001). Use of cidofovir in progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann Pharmacother* 35, 741–744.
- Sontag, E., Fedorov, S., Kamibayashi, C., Robbins, D., Cobb, M., and Mumby, M. (1993). The interaction of SV40 small tumor antigen with protein phosphatase 2A stimulates the map kinase pathway and induces cell proliferation. *Cell* 75, 887–897.
- Sood, P., Senanayake, S., Sujeet, K., Medipalli, R., Van-Why, S.K., Cronin, D.C., Johnson, C.P., and Hariharan, S. (2013). Donor and recipient BKV-specific IgG antibody and posttransplantation BKV infection: a prospective single-center study. *Transplantation* 95, 896–902.
- Sowd, G.A., Li, N.Y., and Fanning, E. (2013). ATM and ATR Activities Maintain Replication Fork Integrity during SV40 Chromatin Replication. *PLoS Pathog* 9.
- Stehle, T., Gamblin, S.J., Yan, Y., and Harrison, S.C. (1996). The structure of simian virus 40 refined at 3.1 Å resolution. *Structure* 4, 165–182.
- Štros, M. (2010). HMGB proteins: interactions with DNA and chromatin. *Biochim. Biophys. Acta* 1799, 101–113.
- Sullivan, C.S., Grundhoff, A.T., Tevethia, S., Pipas, J.M., and Ganem, D. (2005). SV40-encoded microRNAs regulate viral gene expression and reduce susceptibility to cytotoxic T cells. *Nature* 435, 682–686.
- Suzuki, T., Kimura, A., Nagai, R., and Horikoshi, M. (2000). Regulation of interaction of the acetyltransferase region of p300 and the DNA-binding domain of Sp1 on and through DNA binding. *Genes to Cells* 5, 29–41.
- Suzuki, T., Orba, Y., Okada, Y., Sunden, Y., Kimura, T., Tanaka, S., Nagashima, K., Hall, W.W., and Sawa, H. (2010). The Human Polyoma JC Virus Agnoprotein Acts as a Viroporin. *PLOS Pathogens* 6, e1000801.
- Szálóki, N., Krieger, J.W., Komáromi, I., Tóth, K., and Vámosi, G. (2015). Evidence for Homodimerization of the c-Fos Transcription Factor in Live Cells Revealed by Fluorescence Microscopy and Computer Modeling. *Molecular and Cellular Biology* 35, 3785–3798.
- Thoma, F., Koller, T., and Klug, A. (1979). Involvement of histone H1 in the organization of the nucleosome and of the salt-dependent superstructures of chromatin. *J Cell Biol* 83, 403–427.
- Thompson, J.A., Radonovich, M.F., and Salzman, N.P. (1979). Characterization of the 5'-terminal structure of simian virus 40 early mRNA's. *J Virol* 31, 437–446.
- Trapp, B.D., Small, J.A., Pulley, M., Khoury, G., and Scangos, G.A. (1988). Dysmyelination in transgenic mice containing JC virus early region. *Ann. Neurol.* 23, 38–48.
- Tremethick, D.J. (1994). High mobility group proteins 14 and 17 can space nucleosomal particles deficient in histones H2A and H2B creating a template that is transcriptionally active. *J. Biol. Chem.* 269, 28436–28442.
- Tremethick, D.J., and Hyman, L. (1996). High mobility group protein 14 and 17 can prevent the close packing of nucleosomes by increasing the strength of protein contacts in the linker DNA. *J. Biol. Chem.* 271, 12009–12016.
- Tremethick, D.J., and Molloy, P.L. (1986). High mobility group proteins 1 and 2 stimulate transcription in vitro by RNA polymerases II and III. *J. Biol. Chem.* 261, 6986–6992.
- Trieschmann, L., Postnikov, Y.V., Rickers, A., and Bustin, M. (1995a). Modular structure of chromosomal proteins HMG-14 and HMG-17: definition of a transcriptional enhancement domain distinct from the nucleosomal binding domain. *Mol Cell Biol* 15, 6663–6669.
- Trieschmann, L., Alfonso, P.J., Crippa, M.P., Wolffe, A.P., and Bustin, M. (1995b). Incorporation of chromosomal proteins HMG-14/HMG-17 into nascent nucleosomes induces an extended chromatin conformation and enhances the utilization of active transcription complexes. *EMBO J* 14, 1478–1489.
- Trieschmann, L., Martin, B., and Bustin, M. (1998). The chromatin unfolding domain of chromosomal protein HMG-14 targets the N-terminal tail of histone H3 in nucleosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, 5468.

- Tsang, S.H., Wang, X., Li, J., Buck, C.B., and You, J. (2014). Host DNA damage response factors localize to merkel cell polyomavirus DNA replication sites to support efficient viral DNA replication. *J. Virol.* 88, 3285–3297.
- Ueda, T., Chou, H., Kawase, T., Shirakawa, H., and Yoshida, M. (2004). Acidic C-tail of HMGB1 is required for its target binding to nucleosome linker DNA and transcription stimulation. *Biochemistry* 43, 9901–9908.
- Ueda, T., Catez, F., Gerlitz, G., and Bustin, M. (2008). Delineation of the Protein Module That Anchors HMGN Proteins to Nucleosomes in the Chromatin of Living Cells. *Mol Cell Biol* 28, 2872–2883.
- Valls, E., Blanco-García, N., Aquizu, N., Piedra, D., Estarás, C., de la Cruz, X., and Martínez-Balbás, M.A. (2007). Involvement of chromatin and histone deacetylation in SV40 T antigen transcription regulation. *Nucleic Acids Res* 35, 1958–1968.
- Varshavsky, A.J., Sundin, O.H., and Bohn, M.J. (1978). SV40 viral minichromosome: preferential exposure of the origin of replication as probed by restriction endonucleases. *Nucleic Acids Res* 5, 3469–3477.
- Vesco, C., and Fantuzzi, L.F. (1982). Different histone families in intracellular SV40 nucleoprotein complexes with respect to the acetylation turnover. *Virology* 118, 389–400.
- Vestner, B., Bustin, M., and Gruss, C. (1998). Stimulation of Replication Efficiency of a Chromatin Template by Chromosomal Protein HMG-17. *J. Biol. Chem.* 273, 9409–9414.
- Vierbuchen, T., Ling, E., Cowley, C.J., Couch, C.H., Wang, X., Harmin, D.A., Roberts, C.W.M., and Greenberg, M.E. (2017). AP-1 Transcription Factors and the BAF Complex Mediate Signal-Dependent Enhancer Selection. *Mol. Cell* 68, 1067-1082.e12.
- Wang, E.H., Friedman, P.N., and Prives, C. (1989). The murine p53 protein blocks replication of SV40 DNA in vitro by inhibiting the initiation functions of SV40 large T antigen. *Cell* 57, 379–392.
- Wang, R., Yang, L., Zhang, Y., Li, J., Xu, L., Xiao, Y., Zhang, Q., Bai, L., Zhao, S., Liu, E., et al. (2018). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus induces HMGB1 secretion via activating PKC-delta to trigger inflammatory response. *Virology* 518, 172–183.
- Ward, I.M., and Chen, J. (2001). Histone H2AX is phosphorylated in an ATR-dependent manner in response to replicational stress. *J. Biol. Chem.* 276, 47759–47762.
- Wasylyk, B., Wasylyk, C., Matthes, H., Wintzerith, M., and Chambon, P. (1983). Transcription from the SV40 early-early and late-early overlapping promoters in the absence of DNA replication. *EMBO J* 2, 1605–1611.
- Watson, M., Stott, K., and Thomas, J.O. (2007). Mapping intramolecular interactions between domains in HMGB1 using a tail-truncation approach. *J. Mol. Biol.* 374, 1286–1297.
- Weir, H.M., Kraulis, P.J., Hill, C.S., Raine, A.R., Laue, E.D., and Thomas, J.O. (1993). Structure of the HMG box motif in the B-domain of HMG1. *EMBO J.* 12, 1311–1319.
- Weisbrod, S.T. (1982). Properties of active nucleosomes as revealed by HMG 14 and 17 chromatography. *Nucleic Acids Res* 10, 2017–2042.
- Weisbrod, S., Groudine, M., and Weintraub, H. (1980). Interaction of HMG 14 and 17 with actively transcribed genes. *Cell* 19, 289–301.
- Wong, B., Chen, S., Kwon, J.-A., and Rich, A. (2007). Characterization of Z-DNA as a nucleosome-boundary element in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 2229–2234.
- Yamagoe, S., Kanno, T., Kanno, Y., Sasaki, S., Siegel, R.M., Lenardo, M.J., Humphrey, G., Wang, Y., Nakatani, Y., Howard, B.H., et al. (2003). Interaction of histone acetylases and deacetylases in vivo. *Mol. Cell. Biol.* 23, 1025–1033.
- Yamaguchi, M., Hayashi, Y., and Matsukage, A. (1995). Essential role of E2F recognition sites in regulation of the proliferating cell nuclear antigen gene promoter during *Drosophila* development. *J. Biol. Chem.* 270, 25159–25165.
- Yin, X., Warner, D.R., Roberts, E.A., Pisano, M.M., and Greene, R.M. (2005). Identification of novel CBP interacting proteins in embryonic orofacial tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 329, 1010–1017.

- Yoshioka, K., Saito, K., Tanabe, T., Yamamoto, A., Ando, Y., Nakamura, Y., Shirakawa, H., and Yoshida, M. (1999). Differences in DNA Recognition and Conformational Change Activity between Boxes A and B in HMG2 Protein. *Biochemistry* 38, 589–595.
- Youn, J.H., and Shin, J.-S. (2006). Nucleocytoplasmic shuttling of HMGB1 is regulated by phosphorylation that redirects it toward secretion. *J. Immunol.* 177, 7889–7897.
- Yuan, L.W., and Gambee, J.E. (2000). Phosphorylation of p300 at serine 89 by protein kinase C. *J. Biol. Chem.* 275, 40946–40951.
- Zhao, X., Madden-Fuentes, R.J., Lou, B.X., Pipas, J.M., Gerhardt, J., Rigell, C.J., and Fanning, E. (2008). Ataxia Telangiectasia-Mutated Damage-Signaling Kinase- and Proteasome-Dependent Destruction of Mre11-Rad50-Nbs1 Subunits in Simian Virus 40-Infected Primate Cells. *J Virol* 82, 5316–5328.
- Zhou, A.Y., Ichaso, N., Adamarek, A., Zila, V., Forstova, J., Dibb, N.J., and Dilworth, S.M. (2011). Polyomavirus Middle T-Antigen Is a Transmembrane Protein That Binds Signaling Proteins in Discrete Subcellular Membrane Sites. *Journal of Virology* 85, 3046–3054.
- Zou, L., and Elledge, S.J. (2003). Sensing DNA damage through ATRIP recognition of RPA-ssDNA complexes. *Science* 300, 1542–1548.